

FASES DE DESARROLLO *in vitro* DEL ALGA AGAROFITA *Gelidium serrulatum* J. AGARDH (GELIDIALES, RHODOPHYTA)

RÓMULO E. LOAYZA AGUILAR & ANDRÉS J. LEMUS CASTRO*

Facultad de Ciencias, Universidad Nacional del Santa. Av. Pacífico No. 508, Chimbote, Perú

* Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Apdo. 245, Cumaná, Venezuela

RESUMEN: En este trabajo se indujo, bajo condiciones de laboratorio, la germinación de tetrásporas y carpósporas del alga agarofita *Gelidium serrulatum*, provenientes de dos localidades distintas del Mar Caribe en el Oriente de Venezuela. La germinación, formación de callos y desarrollo de plántulas son idénticos a partir de tetrásporas y carpósporas; secuencia de eventos que se corresponden con la germinación "tipo *Gelidium*". La plántulas evidenciaron la típica naturaleza uniaxial de las plantas silvestres, pero no se logró desarrollar plantas maduras. Se presume que factores como el movimiento del agua, temperatura, intensidad lumínica y fotoperíodo tienen influencia en la baja tasa de crecimiento de las plántulas. En base a las observaciones del tipo de plantas en el campo, y a la información sobre la ploidía de esta especie y características de las Gelidiaceae, se postula que *Gelidium serrulatum* tiene un ciclo de vida "tipo *Polysiphonia*".

ABSTRACT: Tetraspores and carpospores of the agarophyte *Gelidium serrulatum* from two localities of the Caribbean Sea in Venezuela were germinated in culture. Germination, callus formation and development of plantlets were identical for tetraspores and carpospores. The developmental sequence observed corresponds to the *Gelidium* type". Plantlets exhibited uniaxial construction, typical of wild plants. Plants did not achieve mature stages. Slow growth rate was attributed to sub-optimal laboratory conditions for environmental parameters, including water current, temperature, light intensity and photoperiod. In the basis of life history phases present in the field, reported ploidy levels and development of both carpospores and tetraspores, we postulate a *Polysiphonia* type" life history for *Gelidium serrulatum*.

INTRODUCCION

Algunos autores, entre ellos FERREIRA *et al.*, (1981) sostienen que mantener y mejorar la calidad de vida en el mundo de hoy implica la utilización de varias sustancias extraídas de recursos naturales renovables, entre los que figuran los coloides de las algas marinas. De éstas últimas, las denominadas agarofitas adquieren relevante importancia ya que son la única fuente de agar (VELÁSQUEZ, (1981), ficololoide que por sus propiedades gelificantes (ARMISEN & GALATAS, 1987; DESIKACHARY *et al.*, 1990a) y no ser tóxico (VOLESKY *et al.*, 1970) es considerado como una sustancia inimitable e insustituible en medicina y bacteriología (BAARDSETH, 1968).

El agar se extrae principalmente de los géneros *Gelidium*, *Gracilaria*, *Pterocladia*, *Hypnea*, *Bryothamnion*, *Iridaea*, *Gloipeltis*, *Rhodoglossum* (CHAPMAN, 1970; FREY, 1971; YACUBSON, 1976), siendo las especies del género *Gelidium* las más importantes (CHAPMAN, 1970; SANTELICES *et al.*, 1981; JENSEN, 1983;

ETCHEVERRY, 1986; RODRÍGUEZ & ESPINOZA, 1987, SANTELICES, 1988; SOUZA & OLIVERA, 1990; DESIKACHARY *et al.*, 1990b; SALINAS, 1991).

El interés por la industria del agar ha hecho que se sobre-exploten los bancos de *Gelidium*, lo que conjugado con su lento crecimiento (JENSEN, 1993), han sido las causas de que el precio de este producto natural experimente drásticos aumentos en los últimos 40 años (BOLD & WYNNE, 1985).

Según HANSEN *et al.*, (1981), actualmente, debido a la gran necesidad de agar para fines industriales y biomédicos, se está ejerciendo presión económica, política, biológica y tecnológica para expandir la maricultura de las algas rojas de manera que se pueda suplir de materia prima a las industrias aun cuando, hasta ahora, la promoción del desarrollo de nuevas fuentes de *Gelidium* es compleja (McLACHLAN, 1985).

Por ser *Gelidium serrulatum* una agarofita considera-

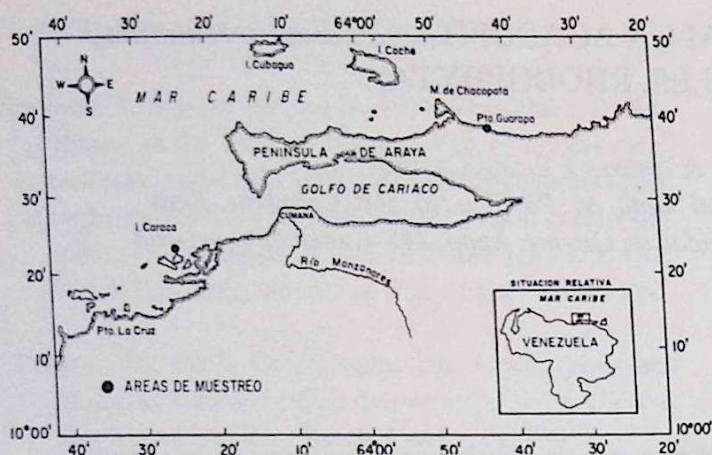


Fig. 1.- Localización geográfica de los sitios de muestreos.

da endémica del Mar Caribe (APONTE, 1985; GANESAN, 1989), reportadas desde el occidente, centro y oriente de Venezuela (RODRÍGUEZ DE RIOS, 1991) y en base a los estudios preliminares sobre su bioecología (GONZÁLEZ, 1977; LEMUS & APONTE, 1987) y caracterización de su agar (APONTE, 1987; LEMUS *et al.*, 1991), se considera un buen prospecto para el desarrollo de la industria del agar en Venezuela. En tal sentido, se propuso en el presente trabajo estudiar las fases del desarrollo *in vitro* de la referida especie, orientados a contribuir con conocimientos básicos para su adecuado manejo futuro, tomando en consideración que el dominio de su cultivo a partir de esporas sería tan, o más importante que el de su reproducción vegetativa, puesto que se reduciría el tiempo y esfuerzo en el proceso de plantación (SANTELICES, 1977).

MATERIALES Y METODOS

El seguimiento de la esporulación, germinación, formación de callos y desarrollo subsiguientes fueron realizados entre octubre de 1993 a marzo de 1994, iniciándose a partir de ramitas reproductivas maduras de plantas tetraspóricas y cistocárpicas, colectadas en Punta Guarapo e Islas Caraca, ubicadas en el oriente de Venezuela, Mar Caribe (Fig. 1).

Las plantas fueron colectadas de la zona intermareal y colocadas en cajas térmicas conteniendo agua de mar del mismo lugar de la colecta, siendo trasladadas al laboratorio. Allí se seleccionaron las plantas maduras tetraspóricas y cistocárpicas con la ayuda de un microscopio-estereoscopio. Luego se procedió a separar las pínulas reproductivas de ambas fases, las cuales fueron liberadas

del material extraño adherido a su superficie, utilizando para ello agujas de disección, pinzas y abundante agua de mar estéril.

Las pínulas tetraspóricas y cistocárpicas fueron colocadas por separado sobre laminillas de 22 x 30 x 0,2 mm, contenidas en cápsulas de Petri con 30 ml del medio de cultivo PROVASOLI SIGMA CHEMICAL COMPANY a una concentración de 10 ml · l⁻¹.

Para prevenir el desarrollo de protozoarios y diatomeas en el medio de cultivo, se siguieron las técnicas reportadas por BOWNE (1962) y LEWIS (1966), además se consideraron los resultados obtenidos por LEMUS & GANESAN, 1977; HOSHAN & ROSAWSKI, 1978; VELÁSQUEZ, 1981; ROJAS *et al.*, 1982; NARHAM & HAGMEIR, 1982; FREDRIKSEN & RUENESS, 1990, en el cultivo de algas rojas a partir de esporas. Por cada litro del medio de cultivo se le añadió una cantidad equivalente a 0,15 partes por mil de cafeína SIGMA CHEMICAL COMPANY y 2,5 ml de una solución de dióxido de Germanio (GeO₂) a una concentración de 10 mg · l⁻¹. Asimismo, a fin de evitar el crecimiento de bacterias y hongos en el medio, a un litro de este se agregaron 100 gotas de una solución de BACTERSOL, preparada en base a 1 gota del bactericida en 20 ml de agua de mar filtrada y esterilizada y 100 gotas de una solución de ANTI-HONGO preparada de igual manera que la solución anterior.

Cápsulas de Petri, en número de 24 (12 + 12) conteniendo pínulas tetraspóricas y cistocárpicas, respectivamente, fueron colocadas en una cámara de crecimiento LAB-LINE AMBIHI-LOCHAMBER, a una temperatura de 29 ± 2 °C, fotoperíodo de 12:12 y 269 μE · m⁻² · S⁻¹.

Adicionalmente a las observaciones al microscopio, se fijaron algunas laminillas conteniendo las esporas en los diferentes estadios de desarrollo. Para la fijación de las esporas recién liberadas fue necesario utilizar una mezcla de 20 ml de acetona al 40%, 5 ml de KARO, 4 gotas de anilina azul al 1% y una gota de formaldehído, en tanto que la fijación de los demás estadios se hicieron empleando una solución de KARO al 50%, a la que se le agregó, por cada 20 ml, 6 gotas de anilina azul al 1% y 2 gotas de formaldehído. En ambos casos se utilizó una gota de HCL al 1% para fijar el colorante a las estructuras.

El medio de cultivo y las cápsulas de Petri fueron

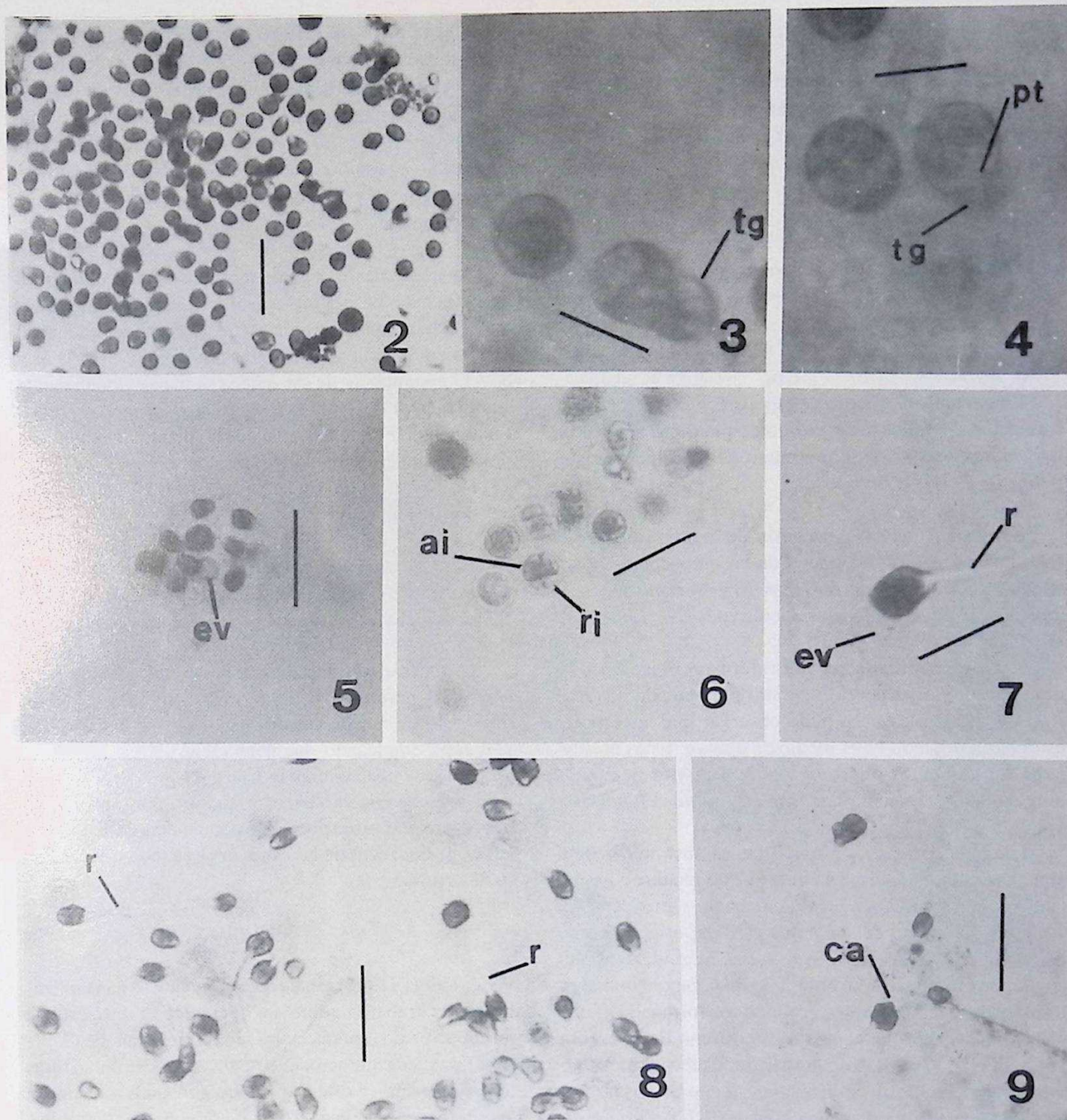


Fig. 2.- Tetrásporas liberadas

Fig. 3.- Formación del tubo germinativo (tg).

Fig. 4.- Migración del contenido de la espora al tubo germinativo, separándose por una pared transversal (pt).

Fig. 5.- Crecimiento del tubo germinativo y espora vacía (ev).

Fig. 6.- Primera y segunda división del tubo germinativo, originando las

células iniciales apical (ai) y rizoide (ri).

Fig. 7.- Desarrollo del primer rizoide (r).

Fig. 8.- Desarrollo del segundo rizoide (r).

Fig. 9.- Inicio del crecimiento de la célula apical (ca).

Escala: 100 μ m (Figs. 2, 5, 8 y 9); Escala: 50 μ m (Figs 6 y 7), Escala: 25 μ m (Figs. 3 y 4).

renovados cada siete días.

Las observaciones microscópicas de los preparados fueron fotografiadas con una cámara PENTAX-Z-10 incorporada a un microscopio KYOWA MEDILUX-12, y película AGFA blanco y negro de 100 ASA.

Luego de 45 días de cultivo, se varió la concentración del medio de cultivo de $10 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ a $15 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$, y en el tercer mes este medio fue cambiado por el de Provasoli (1968), modificado según LEMUS & GANESAN (1977).

RESULTADOS

En general, el proceso de esporulación, germinación, formación de callos y desarrollo de plántulas a partir de tetrásporas y carpósporas presentaron las mismas características.

Se observó que la liberación de las tetrásporas fue ligeramente más rápida que el de las carpósporas, realizándose en las primeras entre las 10 y 14 horas luego de someter las pínulas fértiles al cultivo.

Las esporas liberadas son esféricas (Figs. 2 y 15), amarillas, con una porción central pigmentada de color rojo. En ningún caso se pudo observar que las esporas estuvieran flotando en el medio de cultivo. Estas presentaron movimientos internos contráctiles y, a intervalos muy cortos, se apreció deslizamiento sobre el fondo.

Luego que las esporas se fijan al sustrato, liberan abundante mucílago transparente que las recubre completamente, e inmediatamente comienzan a proyectar su citoplasma por uno de sus polos para dar origen al tubo germinativo inicial (Figs. 3; 4 y 16). Seguidamente, el contenido citoplasmático completo de la espora inicial es transferido hacia el tubo germinativo, formándose una pared transversal que separa a este último de la espora vacía (Figs. 5; 17 y 18). A continuación, el tubo germinativo inicia el proceso de división celular, siendo las dos primeras divisiones perpendiculares al plano del sustrato, y en la segunda división se diferencia las células iniciales apical y rizoidal (Figs. 6; 19 y 20). La formación del primer rizoide es de inmediato y su crecimiento muy rápido (Figs. 7 y 21).

La célula apical tarda para desarrollarse, mientras

tanto, el número de células germinativas y filamentos rizoidales aumentan (Figs. 8; 9; 22 y 23), éstos últimos por diferenciación de algunas células proximales de la masa de células germinativas. Posteriormente, el crecimiento del ápice se hace multicelular y en dirección vertical, observándose simultáneamente un notable engrosamiento de los rizoides y de la base adhesiva de la masa de tejido que configuran el callo (Figs. 10 y 24).

Aparentemente, en algunos casos por divisiones longitudinales de la célula apical del callo, se originan dos o tres células apicales y consecuentemente se produce el crecimiento inicial de dos o tres talos (Figs. 11; 12; 25 y 26). El crecimiento de estos talos se hace evidentemente simultáneo al desarrollo de un robusto sistema rizoidal. Finalmente, se pudo observar que las plántulas exhibían la típica naturaleza uniaxial de las plantas silvestres (Figs. 13; 14; 27 y 28), pero sin llegar a mostrar las ramificaciones de éstas últimas.

El desarrollo completo hasta plantas maduras tetraporofíticas y gametofíticas no se logró, debido a que el crecimiento de las plántulas se tornó muy lento.

Es necesario destacar dos aspectos importantes en el desarrollo germinativo de *G. serrulatum*. El primero, referido a que cuando se trató de montar las esporas recién liberadas, empleando una solución de KARO al 50%, éstas en muy poco tiempo se lisaban, cosa que no ocurría con las células que ya habían formado el tubo germinativo; y el segundo, sobre la presencia permanente de abundante mucílago que recubrió las estructuras en todos los estados de desarrollo.

DISCUSION

PUESCHEL (1990) señala que en general se han realizado pocos trabajos sobre la liberación y proceso de germinación de esporas en las algas rojas, aunque GUIRY (1990) sostiene que actualmente se reconocen cinco tipos de germinación en este grupo de organismos, una de las cuales fue denominada "tipo *Gelidium*" por FELDMAN (1983 in GUIRY, 1990) que previamente había sido descrita por KILLIAN (1914 in SANTELICES, 1988) usando tetrásporas de *Pterocladia capillacea* y *Gelidium latifolium* var. *hystrix*, como patrones del Orden de las Gelidiales, y que enmarcan la secuencia de eventos observados en la germinación de tetrásporas y carpósporas de *Gelidium*

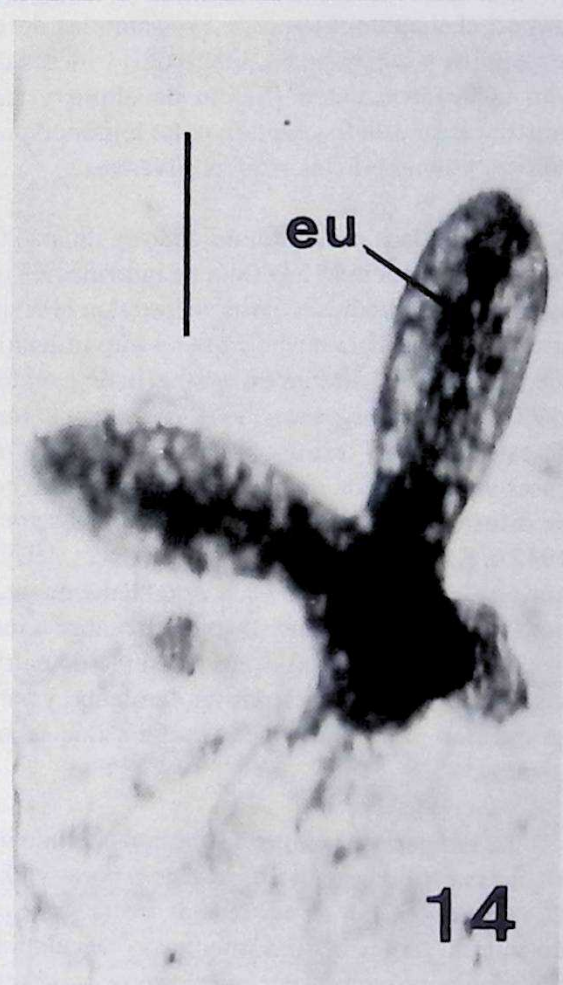
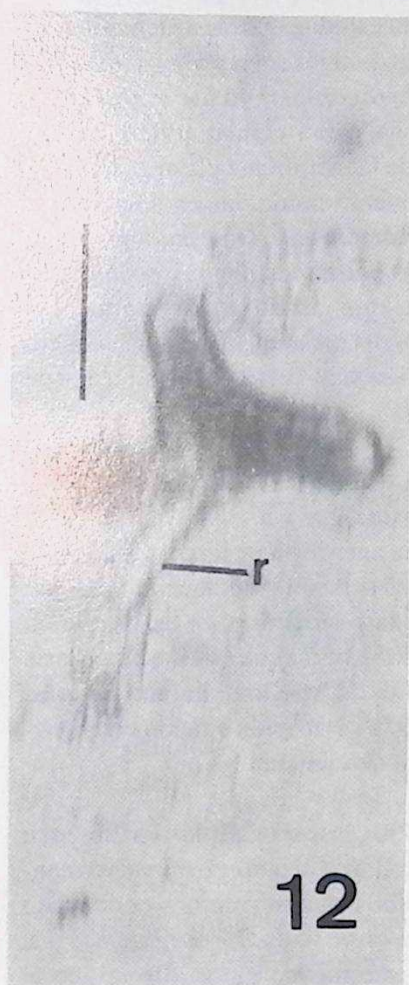
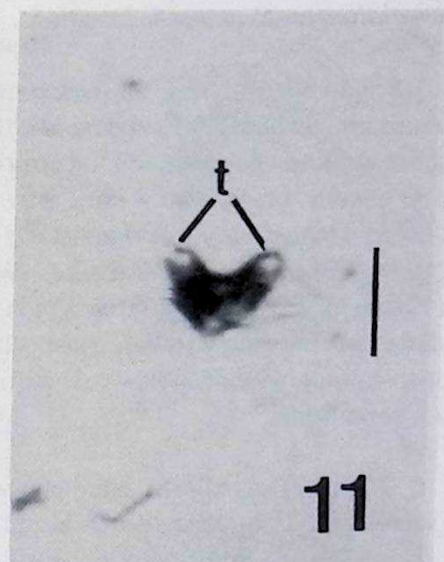
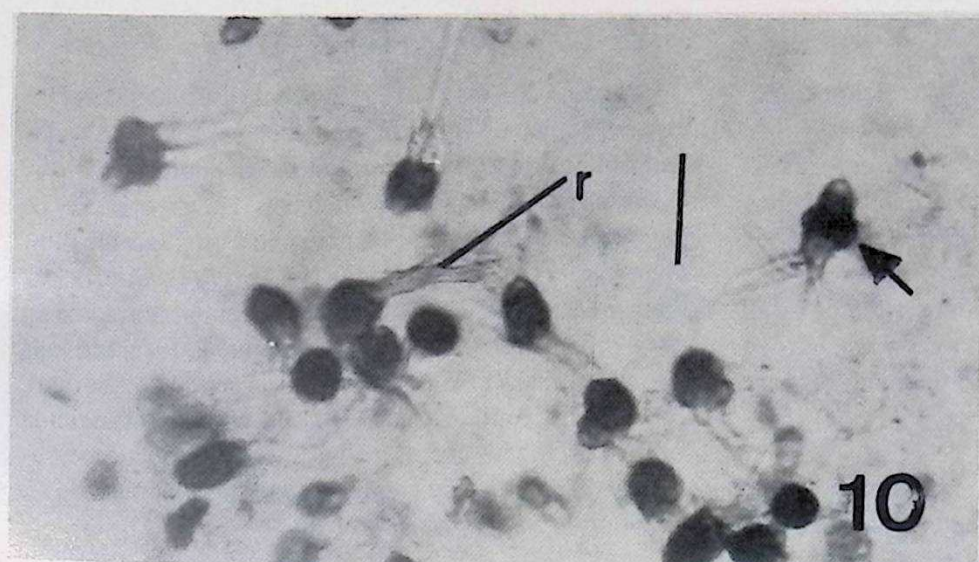


Fig. 10.- Engrosamiento de rizoides (r) y ensanchamiento del callo (punta de flecha).

Fig. 11.- Desarrollo a partir del callo de un talo bifurcado (t).

Fig. 12.- Desarrollo de tres ejes y rizoides prominentes (r).

Fig. 13 - Talo más desarrollado.

Fig. 14.- Talo bifurcado, notándose la naturaleza de eje uniaxial (eu).

Escala: 150 μ m (Fig. 13); Escala: 100 μ m (Figs. 12 y 14); Escala 50 μ m (Figs. 10 y 11).

serrulatum en el presente estudio.

Según SANTELICES (1988), se ha descrito el desarrollo temprano de unas 30 especies de *Gelidium*. Reportes sobre aspectos generales en la germinación de esporas de este género son señaladas por FRITSCH (1977); AKATSUKA (1986) HOMMERSAND & FREDERICQ (1988), SANTELICES (1988), WEST & HOMMERSAND (1981) y PAULA *et al.*, (1988), los mismos que refuerzan la descripción de fases dadas en el presente trabajo, hasta ahora desconocidas en la germinación de esporas y desarrollo de plántulas para *G. serrulatum*.

PAULA *et al.*, (1988) detallan que en *G. floridanum*, a semejanza de lo obtenido en el presente estudio con *G. serrulatum*, y no obstante haber ellos cambiado estrategias en el mantenimiento de las plántulas derivadas de tetrásporas y carpósporas, luego de 11 meses de cultivo sólo alcanzaron cinco (5) cm de altura y siempre se mostraron en estado vegetativo, no logrando presentar el aspecto pinnado de las plantas silvestres.

En realidad se hace complicado explicar el fenómeno antes referido debido a la falta de información que ayude a reforzar las hipótesis que se especulan al respecto. Sin embargo, se podría atribuir que el movimiento del agua juega un rol importante en esta serie de eventos. DAWES (1987) y KAIN & NORTON (1990) destacan la importancia de este factor en términos del suministro de nutrientes, gases y la remoción de metabolitos, ya que el coeficiente de difusión en el agua de mar es bajo (SVERDRUP, *et al.*, 1942 in KAIN & NORTON, 1990; SANTELICES, 1977), aspecto que en *G. serrulatum* se vería notablemente magnificado por la presencia del mucílago que recubre a las algas en desarrollo. En este sentido, el consumo de nutrientes por las algas originaría su rápido agotamiento, y por otro lado se estarían acumulando metabolitos que le resultarían tóxicos.

La temperatura es otro factor considerado importante en el desarrollo germinativo de las esporas y plántulas de *G. serrulatum*, por su influencia directa sobre el contenido interno de las células, afectando la velocidad de las reacciones químicas y por ende los procesos biológicos en sí, además de modificar otros factores ambientales (SANTELICES, 1977) y que a criterio de KATADA (1949, 1955 in SANTELICES, 1988 y CHAPMAN, 1970) es considerada la variable más importante en la germinación de tetrásporas

y carpósporas de *G. amansii*.

Aunque SANTELICES (1977) señala que en general las esporas de las algas marinas parecen ser tolerantes a las bajas intensidades lumínicas, al haber comprobado que luego de guardar por tres semanas las esporas de *G. amansii* en frascos completamente oscuros éstas mantuvieron su viabilidad, NIELL (1987) refiere que la luz intensa (entre 100 a 500 mE) puede originar saturación en estos organismos y afectar su fisiología. Este factor, más la concentración de nutrientes en el medio de cultivo, fotoperíodo, cantidades de GeO_2 , bactericida y fungicida utilizados, son los que, sumados, pudieron haber repercutido en la baja tasa de crecimiento de las plántulas de *G. serrulatum* en el presente trabajo.

AVANZINI (1989) en estudios ultraestructurales de carposporas y tetrásporas de algas rojas y HAWKES (1980) en monosporas de *Porphyragardneri* pudieron establecer que éstas carecen de una pared celular rígida, lo que explicaría la fragilidad de la membrana plasmática de *G. serrulatum* cuando se intentó montarlas en solución de KARO. El primer autor además añade que ambos tipos de esporas están recubiertas por un mucílago y postula que éste, en conjunción con estructuras como las invaginaciones tubulares del plasmalema, jugarían un rol importante en la protección, adherencia y germinación de las esporas.

Aparte del mucílago que estaría recubriendo a las esporas recién liberadas de *G. serrulatum*, y cuyas posibles funciones se señalan anteriormente, no ha sido posible encontrar información sobre el mucílago que siempre se observó recubriendo las estructuras en desarrollo en esta especie, pero se podría asumir que éste desempeñaría un papel importante en el desarrollo temprano de estas algas, protegiéndolas de la desecación cuando ellas quedan expuestas por efecto de la marea.

Según PUESCHEL (1990), las esporas que transfieren su contenido citoplasmático hacia el tubo germinativo mantienen su integridad debido a que su volumen es ocupado por una vacuola, como se observó en *G. serrulatum* (Figs. 5 y 6). Por otro lado, este mismo autor afirma que el movimiento de deslizamiento, también apreciado en *G. serrulatum*, se debería a procesos contráctiles de microfilamentos internos de actina, y que estarían relacionados con la posterior secreción del mucílago.

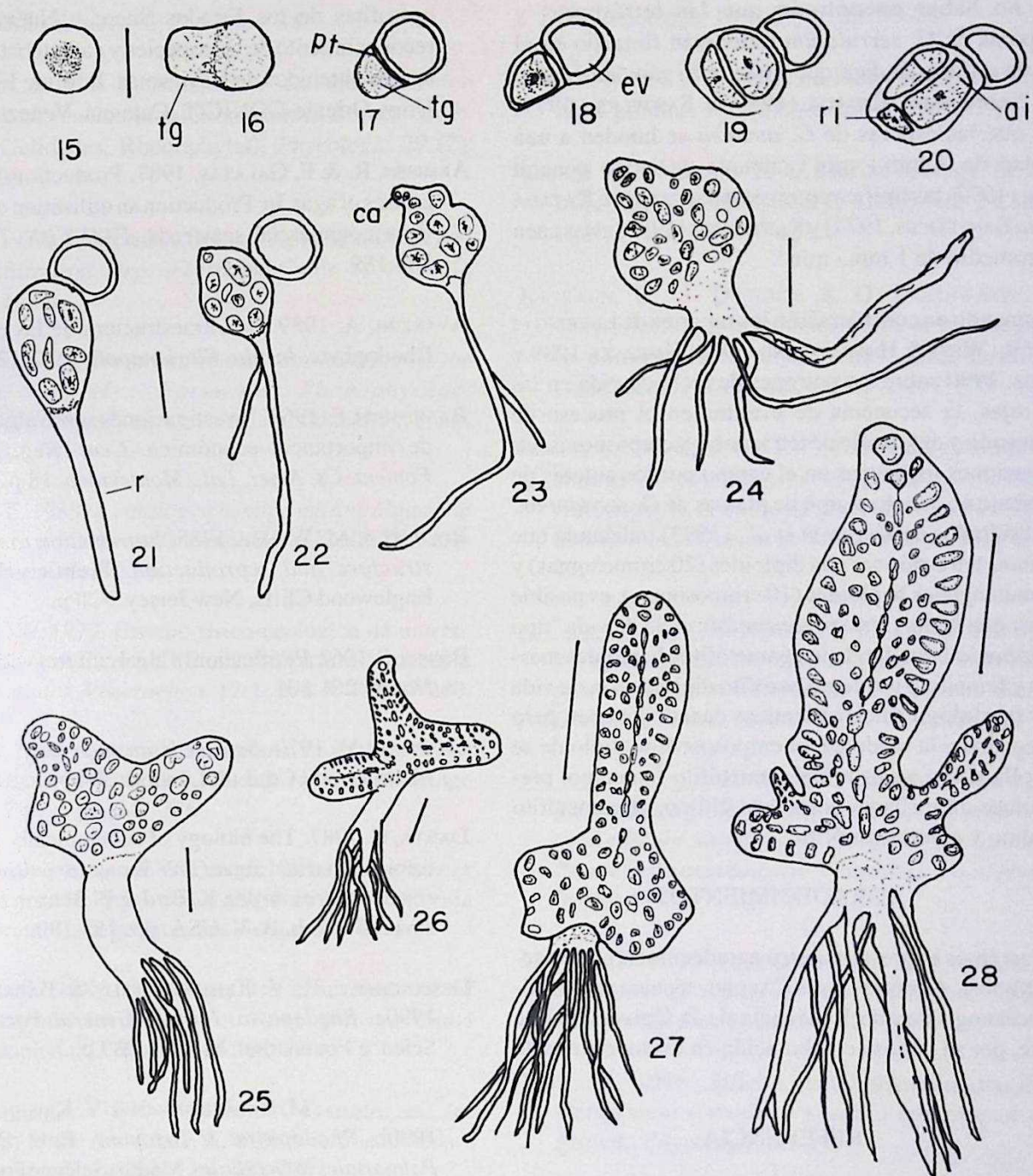


Fig. 15.- Tetráspora.

Fig. 16.- Formación del tubo germinativo (tg).

Fig. 17.- Migración del contenido de la espora al tubo germinativo, separándose por una pared transversal (pt).

Fig. 18.- Crecimiento del tubo germinativo y espora vacía (ev).

Fig. 19 y 20.- Primera y segunda división del tubo germinativo, originando las células iniciales apical (ai) y rizoidal (ri).

Fig. 21.- Desarrollo del primer rizoide (r).

Fig. 22.- Desarrollo del segundo rizoide.

Fig. 23.- Inicio del crecimiento de la célula apical (ca).

Fig. 24.- Engrosamiento de rizoides y ensanchamiento del callo.

Fig. 25.- Desarrollo a partir del callo de un talo bifurcado.

Fig. 26.- Desarrollo de tres ejes y rizoides prominentes.

Fig. 27.- Talo más desarrollado.

Fig. 28.- Talo ramificándose, mostrando su naturaleza de eje uniaxial.

Escala: 100 µm (Fig. 28); escala: 50 µm (Figs. 24, 25, 26 y 27);

Escala: 25 µm (Figs. 15-23).

El no haber encontrado que las tetrásporas y carpósporas de *G. serrulatum* estuvieran flotando en el medio de cultivo, indica que éstas caen rápidamente al fondo. Sobre esto, KATADA (1955 in SANTELICE, 1977) refiere que las esporas de *G. amansii* se hunden a una velocidad de $2 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, aunque de modo general FRITSCH (1977) las tipifica como pesadas, y según KATADA (1955 in SANTELICES, 1977) y SANTELICES (1988) estas caen a un promedio de $1 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$.

Tomando en consideración los reportes de LEVRING *et al.*, 1969; WEST & HOMMERSAND, 1981; UMEZAKI, 1989 Y HAWKES, 1990 sobre los patrones de ciclo de vida en las algas rojas, la secuencia de eventos en el proceso de germinación y desarrollo de tetrásporas y carpósporas, las observaciones realizadas en el campo por los autores de este trabajo en cuanto al tipo de plantas de *G. serrulatum*, y los resultados de KAPRAUN *et al.*, (1993) indicando que las plantas tetráspóricas son diploides (20 cromosomas) y las gametangiales haploides (10 cromosomas), es posible sostener que *G. serrulatum* presenta un ciclo de vida "tipo *Polysiphonia*", en donde los gametófitos haploides masculino y femenino y el tetrasporófito diploide son de vida libre y morfológicamente idénticos cuando jóvenes, pero que llegados a la madurez, el carposporófito diploide se desarrolla como parásito del gametófito femenino, presentándose dimorfismo entre éste último, el gametófito masculino y el tetrasporófito.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a los señores MIGUEL GÓMEZ y JESÚS CARDIET, técnicos del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente, por su valiosa colaboración en los muestreos de campo.

REFERENCIA

- AKATSUKA, I. 1986. Japanese Gelidiales (Rhodophyta) especially *Gelidium*. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 14: 171-263.
- APONTE, M. 1985. Evaluación taxonómica de las algas marinas de la costa norte de la Isla de Margarita, Venezuela. *Trab. de Grado. Inst. Oceanogr, Venez., Univ. Oriente, Cumaná, Venezuela.* 394 p.
- . 1987. Localización de algunos bancos de agarofitas de los Estados Sucre y Nueva Esparta, reconocimiento de las especies y características de los agares obtenidos de las mismas. *Informe Final Conv. Univ. Oriente-CONICIT, Cumaná, Venezuela.* 73 p.
- ARMISEN, R. & F. GALATAS. 1987. Production, properties and uses of agar. In: *Production and utilization of products from commercial seaweeds. FAO Fish. Tech. Pap.* 288:189.
- AVANZINI, A. 1989. La ultraestructura de las esporas de Rhodophyta. *Insula, Florianapolis* 19:7-12.
- BAARDSETH, E. 1968. Investigaciones sobre algas marinas de importancia económica. *Cent. Reg. UNESCO Foment. Cs. Amer. Lat., Montevideo.* 18 p.
- BOLD, H & M. WYNNE. 1985. *Introduction to the algae: structure and reproduction.* Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 720 p.
- BOWNS, S. 1962. Purification of algal cultures with caffeine. *Nature* 201:801.
- CHAPMAN, V. 1970. *Seaweeds and their uses.* 2da. Ed., Methuen and Co. Ltd. London. 304 p.
- DAWES, C. 1987. The biology of economically important tropical marine algae. In: *Seaweed cultivation for renewable resources*, K. Bird & P. Benson (eds.), Elsevier Sc. Pub. B. V. USA. pp. 155-190.
- DESIKACHARY, T.; V. KRISHNAMURTHY & BALAKRISHNAN. 1990a. *Rhodophyta. Part I: General Part.* Madras Science Foundation, Madras. 289 p.
- ; M. BALAKRISHNAN & V. KRISHNAMURTHY. 1990b. *Rhodophyta: II-Taxonomy Part, Part II A: Palmariales to Gelidiales.* Madras Science Foundation, Madras. pp. 191-212.
- ETCHEVERRY, H. 1986. Algas marinas bentónicas de Chile. *Ofic. Reg. Cs. Tec. UNESCO, Montevideo.* 379 p.
- FERREIRA, M.; CAMARA, E. DE OLIVEIRA; S. MORAIS & M. DE VASCONCELOS. 1981. Proyecto Algas Estado do Rio Grande do Norte. Cap. 1: *Prospeccao dos bancos de algas marinhas do Estado do Rio Grande do Norte - 1a Parte: profundidade de 0 a 10 metros.* Serie: Brasil

- SUDENE. *Estudios de Pesca* 9:1-23.
- FREDRIKSEN, S. & J. RUENESS. 1990. Culture studies on *Pterocladia melanoidea* (Schousboe ex Bornet) comb. nov. (Gelidiales, Rhodophyta), *Phycologia* 29 (2): 182-190.
- FREY, H. 1971. California's living marine resources and their utilization. *Dep. of Fish and Game*, St. of Calif., USA. 148 p.
- FRITSCH, F. 1977. *The structure and reproduction of the algae. vol. II : Foreword, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Myxophyceae*. Cambridge Univ. Press. 939.
- GANESAN, E. 1989. *A catalog of benthic marine algae and seagrasses of Venezuela*. Fondo Edit. CONICIT. Caracas, Venezuela. 237 p.
- GONZÁLEZ, A. 1977. Estudio físico-ecológico de una región del litoral central (Punta de Tarma)-Venezuela. *Sep. Act. Bot. Venezuelica*. 12(1; 2; 3 & 4): 207-240.
- GUIRY, M. 1990. Sporangia and spores. In *Biology of the Red Algae*, K. Cole & R. Sheath (eds.), Cambridge Univ. Press., pp. 347-376.
- HANSEN, J.; J. PACKARD & W. DOYLE. 1981. *Mariculture of red seaweeds*. Repor # T-CSGCP-002, A California Sea Grant, College Program Publication. 42 p.
- HAWKES, M. 1980. Ultrastructure characteristics of monospore formation in *Porphyra gardneri* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 16:192-196.
- _____. 1990. Reproductive strategies. In: *Biology of the Red Algae*, K. Cole & R. Sheath (eds.), Cambridge Univ. Press, pp. 455-476.
- HOMMERSAND, M. & S. FREDERICQ., 1988. An investigation of cystocarp development in *Gelidium pteridifolium* with a revised description of the Gelidiales (Rhodophyta). *Phycologia* 27(2): 254-272.
- HOSHAN, R. & J. ROSOWSKI. 1978. Methods for microscopic algae. In: *Handbook of Phycological Methods: Culture methods and growth measurements*, J. Stein (ed.), Univ. of Cambridge, New York, pp. 53-68.
- JENSEN, A. 1993. Present and future needs for algae and algal product. *Phycologia* 260 & 261: 15-23.
- KAIN, J. & T. NORTON. 1990. Marine ecology. In: *Biology of the Red Algae*, K. Cole & R. Sheath (eds.), Cambridge Univ. Press, pp. 377-422.
- KAPRAUN, D.; J. DUTCHER & D. FRESHWATER. 1993. Quantification and characterization of nuclear genomes in commercial red seaweeds: Gracilariales and Gelidiales. *Hydrobiologia* 260 & 261: 679 - 688.
- LEMUS, A. & E. GANESAN. 1977. Morphological and culture studies in two species of *Predaea* G. De Toni (Rhodophyta, Gymmophlaeaceae) from the Caribbean Sea. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente* 16(1 & 2): 63-77.
- _____. M. APONTE. 1987. Estudios de biomasa y regeneración de algunos bancos naturales de agarofitas en el oriente de Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente* 26 (1 & 2): 37 - 44.
- _____.; K. BIRD; D. KAPRAUN & F. KOEHN. 1991. Agard yield, quality and standing crop biomass of *Gelidium serrulatum*, *Gelidium floridanum* and *Pterocladia capillacea* in Venezuela. *Food Hydrocol.* 5: 469-479.
- LEVRING, T.; H. HOPPE & O. SCHMID. 1969. *Marine algae: A survey of research and utilization*. Cram, De Gruyter and Co., Hamburg. 421 p.
- LEWIN, J. 1966. Silicon metabolism in diatoms. V. Germanium dioxide, a specific inhibitor of diatom growth. *Phycologia* 6:1-12.
- MARKHAM, J. & E. HAGMEIER. 1982. Observations on the effects of Germanium dioxide on the growth of macroalgae and diatoms. *Phycologia* 21(2): 125-130.
- McLACHLAN, J. 1985. Macroalgae (seaweeds): industrial resources and their utilization. *Plant and Soil* 89:137-157.
- NIELL, F. 1987. La reproducción de las algas: considera-

- ciones de interés en acuicultura. En: *Reproducción en Acuicultura*, J. Espinar & U. Lobata (eds.), Madrid España, pp. 297-317.
- PAULA, E. DE; Y. UGADIM & R. SANAE. 1988. *Gelidium floridanum* Taylor (Rhodophyta, Gelidiaceae) observacoes na natureza e em cultivo no laboratorio. *Gayana, Bot.* 45(1 & 4): 379-90.
- PROVASOLI, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: *Cultures and collection of algae*, A. Watanabe & A. Hattori (eds.) Proc. U.S. Japan Conf. Hakone, Sept. 1966. Jap. Soc. Plant Physiol., pp. 63-75.
- PUESCHEL, C. 1990. Cell structure. In: *Biology of the Red Algae*, K. Cole & R. Sheath (eds.), pp. 7-41. Cambridge Univ. Press.
- RODRÍGUEZ DE RIOS, N. 1991. Estudios taxonómicos en agarofitas de Venezuela. 1. Notas sobre el género *Gelidium* Lamouroux (Rhodophyta, Gelidiales), *Ernstia* 1(1): 5-20.
- RODRÍGUEZ, H. & J. ESPINOZA. 1987. Variación de fases reproductivas de *Gelidium robustum* Gard. Holl: y Abbott en 7 mantos algales de la Península de Baja California, México. *Invest. Mar. CICIMAR* 3(2): 79-86.
- ROJAS, J.; A. LEMUS & E. GANESAN. 1982. El ciclo vital "in vitro" del alga marina roja *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Collins y Hervey (Bonnemaisoniales, Rhodophyta) del Mar Caribe. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente* 21(1 & 2): 101-102.
- SALINAS, J. 1991. El proceso de refijación de *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thur. (Gelidiales, Rhodophyta). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 7(2): 3-58.
- SANTELICES, B. 1977. *Ecología de las algas marinas bentónicas: efecto de factores ambientales*. Pontificia Univ. Católica de Chile, Chile. 488 p.
- SANTELICES, B. 1988. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). *FAO Fish. Synop.* (145): 1-55.
- SANTELICES, B.; P. OLIGER & S. MONTALVA. 1981. Production ecology of chilean Gelidiales. *Xth. Int. Seaw. Symp.* 10:351-356.
- SOUZA, F. & E. DE OLIVEIRA. 1990. Growth, in vitro of the agar production seaweed *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, Gelidiaceae) under differences of light, temperature and nutrients. *Rvta. Brasil Bot.* 13:55-59.
- UMEZAKI, I. 1989. Life history types of the Florideophyceae (Rhodophyta) and their evolution. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 34 (113): 1-24.
- VELÁSQUEZ, C. 1981. Estudios sobre la bioecología, ecología y composición química de la agarofita *Pterocladia capillacea* (Gmelin) Bornet & Thuret del oriente de Venezuela. Trab. Grado. Lic. Biol. Univ. Oriente, Cumaná, Venezuela. 100 p.
- VOLESKY, B.; J. ZAJIC & E. KNETTING. 1970. Algal products. In: *Properties and products of algae*, E. Zajic (ed.), Plenum Press, New York, pp. 49-82.
- WEST, J. & M. HOMMERSAND. 1981. Rhodophyta: life histories. In: *The Biology of Seaweed, sec. I: Structure and Reproduction. Botanical Monograph* 17: 743-750.
- YACUBSON, S. 1976. Las algas, potencial biológico de las aguas. In: *El mar nuestro de cada día: Un symposium sobre el mar venezolano*, J. Tello (ed.), Caracas, Venezuela. 227 p.