

ASPECTOS TAXONÔMICOS E AMPLITUDE ECOLÓGICA DE
Schizomeris leibleinii
(CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA)

JEFERSON LUIZI PEREIRA

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus
de Rio Claro, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas (Área de
Concentração: Biologia Vegetal)**

**Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Fevereiro de 2004**

ASPECTOS TAXONÔMICOS E AMPLITUDE ECOLÓGICA DE
Schizomeris leibleinii
(CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA)

JEFERSON LUIZI PEREIRA

Orientador: Prof. Dr. LUIS HENRIQUE Z. BRANCO

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus
de Rio Claro, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas (Área de
Concentração: Biologia Vegetal)**

**Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Fevereiro de 2004**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a esta força onipresente chamada Deus, que em vários momentos de minha vida indicou-me sua presença!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Henrique Z. Branco pela sua confiança, paciência e por ter me ensinado a pensar e agir como cientista, além da gratificante experiência de conhecê-lo desde a graduação, o que me proporcionou um grande aperfeiçoamento como ser humano.

Ao Prof. Dr. Orlando Necchi Jr., pela gentileza de ter cedido o espaço para alguns experimentos, pelos valorosos conselhos e pela agradável convivência no instituto.

À Maria Helena Carabolante, pelo inestimável auxílio nas análises de clorofila e pela sua amizade.

Ao Prof. Odair Chinalia e a Prof. Ieda, pelo prestimoso auxílio com os cálculos químicos para alguns experimentos.

Ao Departamento de Zoologia e Botânica do Ibilce/Unesp S. J. do Rio Preto, na figura dos professores e funcionários que me "suportam" desde meus tempos de estágio. Obrigado!

À coordenação do Curso de Pós Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biociências de Rio Claro, nas pessoas das professoras Dra. Vera Lúcia Scatena e Dra. Patrícia Morellato, pela paciência e bom grado que tiveram comigo!

Aos amigos e companheiros de laboratório, Jair Vieira Jr. e Daniel Nunes Spezamiglio, pelos valorosos auxílios com alguns testes estatísticos e coletas, além da gratificante convivência. Valeu pessoal!

Aos amigos Anilton Venâncio Dias (coletas), Clóvis Frederici, Fernando Eduardo Fernandes, Flávia Regina Sgarbi, Josefa Basílio, Marcus Alexandre Luz, Maria José Malvezzi (Zeca), Milson Zucarelli (Júnior) e

Reginaldo Pessetti por terem me suportado por todos esses anos, principalmente nos momentos mais críticos da minha vida, pelas divertidas conversas, e pelas palavras certas nas horas certas! Muito obrigado pessoal!

Aos companheiros e ex-companheiros de laboratório Abner, Ana, Ciro, Emerson, Fábio, Gustavo, Joana e Juliana Merlotti, pelas trocas de experiências, conversas divertidas e, às vezes, "estressantes" reuniões (cartucho de tinta, limpeza !?).

À D. Elza Casella Gagliardi, por ter tido paciência e por ter entendido as minhas faltas nos momentos que mais precisei. Obrigado!

A minha mãe, Maria Antonia, aos meus irmãos Emerson e Simone Luiz Pereira, aos meus sobrinhos Gabriel e Paola. Obrigado por existirem. Eu adoro vocês!

À todas as pessoas que, direta ou indiretamente, participaram do desfecho desta dissertação e que acreditaram em mim!

...

*“don't give up
'cause you have friends
don't give up
you're not the only one
don't give up
no reason to be ashamed
don't give up
you still have us
don't give up now
we're proud of who you are
don't give up
you know it's never been easy
don't give up
'cause I believe there's a place
there's a place where we belong”*

Peter Gabriel (Don't Give Up, 1986)

ÍNDICE

CONTEÚDO	PÁGINA
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
BIBLIOGRAFIA.....	4
CAPÍTULO 1. VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E ASPECTOS CARIOLÓGICOS EM <i>Schizomeris leibleinii</i> (CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA).....	6
INTRODUÇÃO.....	7
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
RESULTADOS.....	14
Variação morfométrica intrapopulacional.....	14
Variação morfométrica interpopulacional.....	28
Cariologia.....	33
Zoosporogênese.....	33
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....	36
Variação morfométrica.....	36
Cariologia.....	47
Zoosporogênese.....	49
BIBLIOGRAFIA.....	52
APÊNDICE.....	58
CAPÍTULO 2. AMPLITUDE ECOLÓGICA DE <i>Schizomeris leibleinii</i> (CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA).....	60
INTRODUÇÃO.....	61
MATERIAL E MÉTODOS.....	63
RESULTADOS.....	68
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....	75
Respostas de crescimento à variação de nutrientes.....	75
Efeitos do PO ₄ e NO ₃ na produtividade do crescimento algal.....	76

BIBLIOGRAFIA	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
RESUMO.....	87
ABSTRACT.....	90

INTRODUÇÃO GERAL

Cerca de 80% do planeta Terra é constituído de água, mas desse percentual, apenas 2,8% corresponde à parte doce (TARBUCK & LUTGENS, 1997). Boa parte dessa água doce encontra-se sob a forma de gelo nos pólos (68,7%) e em lençóis subterrâneos (29,9%). Entretanto, são dos rios e dos lagos que a população mundial retira quase toda a água que consome. Esses corpos d'água concentram apenas 0,26% do total disponível desse líquido. O lançamento de esgotos domésticos ou industriais nesses ambientes contribui com a poluição dos mesmos, tornando suas águas impróprias tanto para o consumo humano quanto para determinadas atividades, como por exemplo, a agricultura (TARBUCK & LUTGENS, 1997).

A alga verde *Schizomeris leibleinii* Kützing é um representante comum em ambientes aquáticos eutrofizados ou impactados por poluição orgânica (CAMPBELL & SARAFIS, 1972; SARMA & CHAUDHARY, 1975; YADAVA & PANDEY, 1980; DIAS, 1985; NECCHI et al., 1994; ENTWISLE et al., 1997; BRANCO & PEREIRA, 2002) ou industrial (TIWARI, 1994) no mundo inteiro.

De acordo com as interpretações mais atuais, parece consenso que todas as espécies do gênero *Schizomeris* (caso considere-se a existência de mais de uma) pertencem à ordem Chaetophorales e à família Schizomeridaceae (BIRKBECK et al., 1974; MATTOX et al., 1974; HOEK et al., 1998). Segundo MATTOX et al. (1974), as análises citológicas e ultra-estruturais efetuadas em células de *S. leibleinii* aproximam esta espécie dos organismos pertencentes à ordem Chaetophorales, mediante as seguintes características: ocorrência de citocinese por placa celular apresentando ficoplasto com microtúbulos associados; presença de plasmodesmos nas paredes transversais, e variável número de flagelos nas células móveis.

Esta alga é filamentosa, desprovida de ramificações e apresenta sistema basal de fixação diferenciado. Quando jovens os filamentos mostram-se finos e unisseriados, dotados de células regulares variando de 12,5-57,5 µm de

diâmetro por 6,0-50,0 µm de comprimento, com a região apical geralmente acuminada. Os filamentos mais velhos são grossos (até 225 µm de diâmetro) e multisseriados, com células irregulares variando de 7,5-40,0 µm de diâmetro por 5,0-25,0 µm de comprimento e região apical geralmente truncada ou arredondada (NECCHI et al., 1997). Segundo ENTWISLE et al. (1997), *S. leibleinii* é raramente ramificado e de acordo com os trabalhos de MATTOX et al. (1974), SARMA & CHAUDHARY (1975) e YADAVA & PANDEY (1980), as ramificações apenas ocorrem em espécimes cultivados em laboratório.

As interpretações taxonômicas de *Schizomeris* podem ser muito divergentes, dependendo da abordagem adotada. O gênero, segundo alguns autores, é composto apenas pela espécie *S. leibleinii* (WATSON & TILDEN, 1930; PATEL, 1967; DIAS, 1985; NECCHI et al., 1997). Outros descrevem, além da espécie anterior, *S. irregularis* Fritsch & Rich e *S. indicum* (como *Uronema indicum* Ghose) para esse gênero (FRITSCH & RICH, 1924; PRASAD & SRIVASTAVA, 1963; YADAVA & PANDEY, 1980; ENTWISLE et al. 1997). De acordo com PRASAD & SRIVASTAVA (1963), a característica mais confiável para se distinguir as três espécies seria a diferenciação do sistema basal de fixação dessas plantas. Segundo esses autores, *S. indicum* apresenta o sistema basal como um apressório mucilaginoso (disco de fixação), enquanto em *S. irregularis* o sistema de fixação seria claviforme e em *S. leibleinii* a região basal seria alongada e sub-rizoidal, podendo ser também rizoidal, lobada ou ramificada.

CAMPBELL & SARAFIS (1972), com base nas semelhanças das características das fases iniciais de desenvolvimento, consideraram *S. leibleinii* como sendo apenas uma das formas de crescimento de *Stigeoclonium tenue* (Agardh) Kützing, encontrada quando as condições do ambiente eram desfavoráveis ao seu desenvolvimento.

Alguns trabalhos sugerem que *S. leibleinii* seja um bom indicador de poluição, pois se desenvolve exuberantemente em ambientes fortemente eutrofizados ou organicamente poluídos, merecendo, assim, certa atenção (NECCHI et al., 1994; BRANCO & PEREIRA, 2002). Dessa maneira, o conhecimento de sua biologia e de sua capacidade de tolerância às condições

ambientais torna-se importante para futuros projetos relacionados ao biomonitoramento. A espécie em questão tem-se mostrado eficiente também como elemento importante até mesmo na recuperação de ambientes degradados/impactados. ÖZER et al. (1999) utilizaram células dessecadas desta alga para absorção de íons metálicos em um rio poluído por metais pesados, enfatizando ainda mais a importância do conhecimento de sua biologia, fisiologia e taxonomia.

O presente trabalho tem os seguintes objetivos:

1. Estudar o desenvolvimento da espécie *Schizomeris leibleinii* em cultura, através da variação de parâmetros químicos relacionados com poluição orgânica;
2. Avaliar o uso desta espécie como indicadora de poluição;
3. Realizar estudos taxonômicos do gênero *Schizomeris*;
4. Fornecer informações para trabalhos posteriores sobre biomonitoramento de poluição orgânica em ambientes lóticos tropicais

BIBLIOGRAFIA

- BIRKBECK, T. E.; STEWART, K. D.; MATTOX, K. R. The cytology and classification of *Schizomeris leibleinii* (Chlorophyceae). II. The structure of quadriflagellate zoospores. **Phycologia**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 71-79, 1974.
- BRANCO, L. H. Z.; PEREIRA, J. L. Evaluation of seasonal dynamics and bioindication potential of macroalgal communities in polluted tropical stream. **Arch. Hydrobiol.**, Stuttgart, v.155, n.1, p. 147-161, 2002.
- CAMPBELL, E.O.; SARAFIS, V. *Schizomeris* - a growth form of *Stigeoclonium tenue* (Chlorophyta: Chaetophoraceae). **J. Phycol.**, Lawrence, v. 8, p. 276-282, 1972.
- CHOWDARY, Y. B. K. A cytological study of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Rev. Algol.**, Paris. v. 8, p. 302-306, 1967.
- DIAS, I. C. A. Chlorophyta filamentosas da Lagoa de Juturnaíba, Araruama, Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Bot.**, São Paulo, v. 8, p. 93-99, 1985.
- ENTWISLE, T. J.; SONNEMAN, J. A. & LEWIS, S. H. **Freshwater Algae in Australia**. Melbourne: Sainty & Associates, 1997.
- FRITSCH, F. E.; RICH, F. Contributions to our knowledge of freshwater algae of Africa. 4. Freshwater and subaerial algae from Natal. **Trans. Roy. Soc. S. Afr.**, Cape Town, v. 11, p. 297-398, 1924.
- HOEK, C. van den; MANN, D.G. & JAHNS, H.M. **Algae: An introduction to phycology**. United Kingdom : Cambridge, 1998.
- MATTOX, K. R.; STEWART, K. D. & FLOYD, G. L. The cytology and classification of *Schizomeris leibleinii* (Chlorophyceae). I. The vegetative thallus. **Phycologia**, Oxford, v. 13, n. 1, 63-69, 1974.
- NECCHI, O.Jr.; BRANCO, L.H.Z. & DIP, M.R. Uso de macroalgas para avaliação da poluição orgânica no Rio Preto, noroeste do estado de São Paulo.

- An. Acad. bras. Ci.**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 359-371, 1994.
- NECCHI, O. Jr.; PASCOALOTO, D.; BRANCO, C. C. Z. & BRANCO, L. H. Z. Stream macroalgal flora of the northwest region of São Paulo State, southeastern Brazil. **Algol. Stud.**, Stuttgart, v. 84, p. 91-112, 1997.
- ÖZER, A.; ÖZER, D.; EKIZ, H. I. Application of Freundlich and Langmuir models to multistage purification process to remove heavy metal ions by using *Schizomeris leibleinii*. **Process Biochem.**, 34, 919-927, 1999.
- PATEL, R. J. On morphology and cytology of *Schizomeris leibleinii* Kuetz. from Gujarat. **Phykos**, New Dheli, v. 6, p. 87-90, 1967.
- PRASAD, B. N. & SRIVASTAVA, P. N. Observations on the Morphology, Cytology, and Asexual Reproduction of *Schizomeris leibleinii*. **Phycologia**, v. 2, n. 4, p. 148-156, 1963.
- SARMA, Y. S. R. K. & CHAUDHARY, B. R. On a new cytological race of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 47, p. 181-191, 1975.
- TARBUCK, E. J. & LUTGENS, F. K. **Earth Science**. 8. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997.
- TIWARI, M. G. New record of *Schizomeris leibleinii* (alga) from polluted habitats of south Chotanagpur, Bihar. **J. Ecobiol.**, New Dheli, v. 6, p. 71-72, 1994.
- WATSON, J. B.; TILDEN, J. The algal genus *Schizomeris* and the occurrence of *Schizomeris leibleinii* Kützing in Minnesota. **Trans. Am. Microsc. Soc.**, Lawrence, v. 49, p. 160-167, 1930.
- YADAVA, R. N.; PANDEY, D. C. Certain cultural observations on *Schizomeris leibleinii* Kuetz. **Phykos**, New Dheli, v. 19, n. 2, p. 204-209, 1980.

CAPÍTULO 1

VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E ASPECTOS CARIOLÓGICOS EM *Schizomeris leibleinii* (CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA)

INTRODUÇÃO

O gênero de alga verde *Schizomeris* foi proposto por KÜTZING (1843a) e validado pelo autor no mesmo ano com a publicação da descrição de *Schizomeris leibleinii* (KÜTZING, 1843b). KÜTZING (1845), reconhecendo o gênero como distinto, incluiu-o, então, na família Hormidieae. A validade de *Schizomeris* foi colocada em dúvida por alguns ficólogos que o consideraram meramente um estágio de desenvolvimento de *Ulothrix* Kützing (CIENKOWSKI, 1876; WILLE, 1890; PRINTZ, 1927; FRITSCH, 1935), referindo-o para família Ulotrichaceae como um gênero duvidoso. FOTT (1959) e BOURRELY (1966), no entanto, consideraram-no como membro das Ulvaceae (ordem Ulvales). Tanto PRESCOTT (1951, 1962, 1968) como PAPENFUSS (1955) designavam este gênero para uma família própria, Schizomeridaceae, pertencente à ordem Ulotrichales. Atualmente, por meio de análises citológicas feitas por BIRKBECK et al. (1974) e MATTOX et al. (1974), *Schizomeris* é considerado um gênero bem delimitado e classificado na família Schizomeridaceae (Chaetophorales).

O número de espécies pertencente a este gênero também é duvidoso. Vários autores consideraram-no como monoespecífico, tendo como representante apenas a espécie *S. leibleinii* (DIAS, 1985; NECCHI et al., 1997; PATEL, 1967; WATSON & TILDEN, 1930). Em 1924, FRITSCH & RICH descreveram uma segunda espécie, *Schizomeris irregularis*, e concluíram que *Uronema indicum* Ghose seria melhor designada como *Schizomeris indicum*, sendo esta a terceira espécie.

De todas as espécies anteriormente citadas, apenas *S. leibleinii* é mencionada e descrita com freqüência na literatura mundial, enquanto *S. irregularis* e *S. indicum* foram citadas, respectivamente, apenas para África do Sul (FRITSCH & RICH, 1924) e Índia (GHOSE, 1920, como *Uronema indicum*). A alga *S. leibleinii* é filamentosa, desprovida de ramificações e dotada de sistema basal de fixação do tipo rizoidal, lobado ou ramificado. Geralmente os filamentos adultos mostram-se unisseriados próximo a base (região unisseriada) com células achatadas ou cilíndricas, variando de 12,5-57,5 µm de

diâmetro por 6,0-50,0 µm de comprimento. Os filamentos são multisseriados na região distal (região multisseriada), apresentando até 225 µm de diâmetro, com células irregulares variando de 7,5-40,0 µm de diâmetro por 5,0-25,0 µm de comprimento e com região apical geralmente truncada ou arredondada (NECCHI et al., 1997).

As descrições das espécies de *Schizomeris* (CAMPBELL & SARAFIS, 1972; FRITSCH & RICH, 1924; GHOSE, 1920; GUPTA, 1953; PATEL, 1967; WATSON & TILDEN, 1930; WOOD, 1868; YADAVA & PANDEY, 1980) são geralmente inadequadas, incompletas ou conflitantes (Tabela 7).

Segundo FRITSCH & RICH (1924), *S. irregularis* distingue-se das outras duas espécies pela disposição irregular das células na região multisseriada do filamento, mas PRASAD & SRIVASTAVA (1963) constataram que esta característica depende do estágio de desenvolvimento do filamento.

Já *S. indicum* diferencia-se das demais espécies pelo ápice acuminado dos filamentos. Contudo, WATSON & TILDEN (1930) coletaram espécimes que apresentavam todas as características de *S. leibleinii*, mas, em muitos casos, os filamentos manifestavam o ápice acuminado.

De acordo com PRASAD & SRIVASTAVA (1963), a característica mais confiável para se distinguir as três espécies seria a diferenciação do sistema basal de fixação dessas plantas. Segundo estes autores, *S. leibleinii* tem a região basal alongada e sub-rizoidal, podendo ser também rizoidal, lobada ou ramificada. *S. indicum* apresenta o sistema basal como um apressório mucilaginoso (disco de fixação), enquanto *S. irregularis* possui sistema de fixação do tipo claviforme.

Várias análises de natureza cariológica foram efetuadas em *S. leibleinii* e, no entanto, os dados disponíveis resultam em ainda mais dúvidas com relação ao cariótipo da espécie. PRASAD & SRIVASTAVA (1963) analisaram amostras desta alga cultivadas a partir de material proveniente da natureza (Utar Pradesh, Índia), encontrando $n = 28$ cromossomos. Em um estudo citológico desta mesma espécie mantida em cultura a partir de material isolado de lagoas altamente poluídas, CHOWDARY (1967a) quantificou como $n = 15$ o número de cromossomos. PATEL (1967) analisou amostras coletadas em

Gujarat (Índia) que apresentavam 30 cromossomos, sugerindo que esta diferença na contagem em relação aos autores anteriores poderia ser devido à manifestação de poliploidia, raças citológicas ou por alternância de gerações nesta espécie. SARMA & CHAUDHARY (1975) determinaram um $n = 14$ cromossomos para amostras de cultura e coletadas da natureza em Uttaranchal e Utar Pradesh (Índia), o que diferiu consideravelmente dos cariótipos encontrados até então, sugerindo assim, segundo os autores, que a população estudada seria uma nova raça citológica de *S. leibleinii*.

Tendo em vista as incertezas em relação a essa espécie e as demais pertencentes ao gênero *Schizomeris*, o objetivo deste trabalho é avaliar taxonomicamente a espécie *S. leibleinii* através de dados morfométricos e cariológicos, com a finalidade de delimitar características confiáveis a serem usadas na taxonomia do gênero em questão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo da variabilidade morfológica de espécimes de *Schizomeris leibleinii* seguiu duas linhas principais: avaliação de populações de diferentes localidades (espacial) e populações de mesma localidade amostradas mensalmente (temporal). A análise da variação morfométrica em populações distintas de *S. leibleinii* foi realizada a partir de amostras coletadas em dez localidades diferentes e uma proveniente de material crescendo em laboratório. Todas as amostras encontravam-se preservadas em solução de formaldeído 4% (JOHANSSON, 1982) e são originárias de: 1) herbário do IBILCE/UNESP de São José do Rio Preto/SP – SJRP [abreviação de herbário de acordo com HOLMGREN et al. (1990)] denominadas Rio Preto (SJRP23461), Canela (SJRP23479), Borá (SJRP23483), Dourados (SJRP27369), São Pedro (SJRP23535); 2) Museu Nacional, Depto. de Botânica/RJ (amostra cedida pela Dra. Izabel C. A. Dias) Fazenda Favorita (R155583); 3) novas coletas feitas nos meses de abril/2001, maio/2001, novembro/2001 e outubro/2002, respectivamente no Ribeirão Claro (Guapiaçu/SP), Rio Verde (Campina Verde/MG), Córrego Piedade (São José do Rio Preto/SP) e Córrego da Maquininha (São José do Rio Preto/SP); e 4) cultura crescendo em Meio Básico de Bold (MBB) por 120 dias (amostra derivada de coleta efetuada em P3 no Ribeirão Claro – Guapiaçu/SP).

Para o estudo da variação morfométrica mensal (janeiro/1998, abril/1998–janeiro/1999) foram analisados espécimes coletados em dois trechos do Ribeirão Claro, denominados P3 (20°46'33"S e 49°11'49"W) e P4 (20°46'15"S e 49°10'39"W), ambos recebendo descargas de esgotos domésticos e resíduos de dois abatedouros de animais (aves e porcos) procedentes da cidade de Guapiaçu/SP (BRANCO & PEREIRA, 2002). Dados referentes a parâmetros físico-químicos do ambiente que foram coletados mensalmente (derivados de BRANCO & PEREIRA, 2002), também foram utilizados em análises para avaliar a possível variação dos caracteres morfométricos e/ou morfológicos com o ambiente.

Baseado em estudos anteriores de variação morfométrica em

macroalgas de ambientes lóticos (NECCHI & PASCOALOTO, 1995; NECCHI, 1997; BRANCO & NECCHI, 1998; VIEIRA & NECCHI, 2002), 20 filamentos algais completos, ou seja, que apresentavam tanto a região unisseriada quanto a multisseriada, foram analisados sob microscopia de luz quanto as seguintes características: morfométricas - (i) diâmetro do filamento (região multisseriada), (ii) diâmetro e comprimento celular (região unisseriada e multisseriada) e morfológica – (iii) tipo de sistema basal de fixação (presença e/ou ausência dos tipos rizóide, apressório, claviforme e lobado). Dessa maneira, 20 medidas/avaliações foram tomadas de cada atributo citado em cada uma das amostras das populações, totalizando assim, 220 medidas/avaliações para cada característica. Para as amostras avaliadas mensalmente (P3 e P4) efetuou-se o mesmo procedimento, sendo que, para cada amostra mensal (um total de 11 para cada população), 20 medidas/avaliações foram tomadas de cada característica, totalizando 220 medidas/avaliações para cada uma das características nas amostras do P3 e P4 (Ribeirão Claro). Todas as medidas/avaliações foram feitas sob microscópio óptico binocular Jenaval dotado de retículo micrometrado e equipado com câmara clara.

Além destas características, a forma e/ou posição dos cloroplastos nas células, disposição das células na região multisseriada, forma do ápice e presença de septos transversais (“anéis”) nos filamentos foram analisadas nestes mesmos filamentos, apenas a título de observação para comparação com dados da literatura especializada sobre a morfometria e morfologia de *S. leibleinii* e de outras espécies do gênero *Schizomeris*.

O material proveniente do Ribeirão Claro (abril/2001) foi destinado, parcialmente, ao crescimento em meio de cultura (população denominada Cultura) para avaliação taxonômica mediante análises morfométricas e/ou morfológicas, produção de zoósporos e à análise cariológica, tendo sido, portanto, subdividido em dois frascos contendo, respectivamente, água do próprio riacho e solução de Carnoy (1:3 ácido acético glacial : álcool absoluto).

Para a obtenção de uma cultura unialgal (não axênica), o material mantido vivo em frasco com água do próprio local foi lavado várias vezes em tubos de ensaio contendo água deionizada esterilizada para a retirada das

impurezas. Em seguida, 3 ou 4 filamentos foram transferidos para erlenmeyers contendo meio de cultura MBB esterilizado (NICHOLS, 1973; YADAVA & PANDEY, 1980). Os erlenmeyers inoculados com *Schizomeris* foram mantidos em câmaras de cultivo sob intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ($\pm 2,0 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro (modificado de SARMA & CHAUDHARY, 1975) e temperatura de 20°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). A repicagem do material, para a obtenção da cultura unialgal, foi efetuada a cada 15 dias, observando-se o desenvolvimento e a contaminação por outras algas (p.ex.: diatomáceas e clorococáceas).

Para a análise cariológica, testes prévios foram realizados para determinar as condições de maior quantidade de divisões celulares nos filamentos. Estes testes consistiram na coleta e fixação dos espécimes com solução de Carnoy, no campo, imediatamente após a coleta, ou em laboratório a intervalos de 30 minutos por um período de 24 horas (CHOWDARY, 1967b; KAPRAUN & MARTIN, 1987). Por intermédio destas fixações preliminares, os filamentos provenientes dos espécimes coletados no período da tarde e fixados no próprio local, mostraram-se satisfatórios por apresentarem maior número de divisões celulares, em particular uma maior quantidade de placas metafásicas, no período compreendido entre as 16:30h e 17:10h. Os cromossomos foram analisados a partir de aproximadamente 30 células em divisão mitótica que se encontravam em metáfase, pelo fato desta fase ser a melhor etapa para se visualizar e quantificar os cromossomos (PRASAD & SRIVASTAVA, 1963; PATEL, 1967; SARMA & CHAUDHARY, 1975; SARMA & JAYARAMAN, 1980; KAPRAUN & MARTIN, 1987; GUERRA, 1999). A preparação para a contagem de cromossomos foi efetuada segundo a técnica descrita por WITTMANN (1965), modificada em virtude da intensa coloração observada no citoplasma das células, o que dificultava a visualização dos cromossomos (em apêndice). Nas observações e registros dos cromossomos utilizou-se um microscópio óptico binocular Jenaval equipado com câmara clara e sistema fotográfico. Os cromossomos foram fotografados com filme Plus-X-Pan ASA 100 e ampliados a partir de objetiva de ampliação fotográfica.

A produção de zoósporos foi conseguida transferindo-se alguns

filamentos de *S. leibleinii* da cultura em MBB, que se encontravam crescendo há mais de 60 dias, para uma placa de Petri contendo também MBB diluído em 1/3 de água destilada, em temperatura ambiente. A produção e liberação dos zoósporos ocorreram cerca de 48 horas após a transferência (modificado de McBRIDE, 1968). Todas as observações foram feitas sob microscópio óptico binocular Jenaval equipado com câmara clara e sistema fotográfico.

Os dados obtidos em relação à variação morfométrica foram submetidos a análises estatísticas descritivas (média, desvio padrão e erro padrão) e tratamentos estatísticos como Análise de Variância (ANOVA - uma via), Teste *t* de *Student* e Análise de agrupamento, para se verificar as diferenças entre as características morfológicas das diferentes populações naturais ou em cultivo e sua relação com a taxonomia da espécie. Os dados das variações morfométricas e morfológicas mensais foram, ainda, submetidos à análise de Correlação (r de Pearson) com os parâmetros ambientais avaliados. Os cálculos estatísticos foram efetuados utilizando-se o software estatístico Minitab versão 10.1 (RYAN et al., 1985).

RESULTADOS

Variação morfométrica intrapopulacional

As características morfométricas e morfológicas das regiões unisseriada e multisseriada dos filamentos (Figuras 1–5) variaram consideravelmente nas populações amostradas mensalmente no Ribeirão Claro (município de Guapiaçu/SP) nos trechos denominados P3 (Tabela 1 e Figura 6) e P4 (Tabela 3 e Figura 8).

População P3

Região unisseriada (Tabela 1)

Os filamentos da amostra coletada em junho/1998 (jun98) apresentaram o menor valor médio para diâmetro celular ($38 \pm 8,61 \mu\text{m}$), em contrapartida na amostra de novembro/1998 (nov98) foi registrada a maior média quanto a esta mesma característica ($58,7 \pm 13,39 \mu\text{m}$). O menor valor observado do comprimento celular ($13,5 \pm 4,74 \mu\text{m}$) nesta população ocorreu na amostra coletada em agosto/1998 (ago98), enquanto o maior ($29,7 \pm 13,61 \mu\text{m}$) foi observado em maio/1998 (mai98).

Dos quatro tipos de sistemas basais de fixação (Figuras 25–38), o tipo apressório esteve presente em todas as amostras, enquanto o tipo rizóide foi observado nas amostras jul98, ago98, set98, out98, nov98 e jan99, contudo o sistema de fixação do tipo lobado ocorreu apenas em dezembro/1998. O sistema basal do tipo claviforme não foi encontrado nas análises desta população.

A ANOVA mostrou que, na região unisseriada, houve diferenças significativas quanto ao diâmetro celular ($F=6,53$; $p<0,001$) e ao comprimento celular ($F=4,60$; $p<0,001$) nas amostras analisadas.

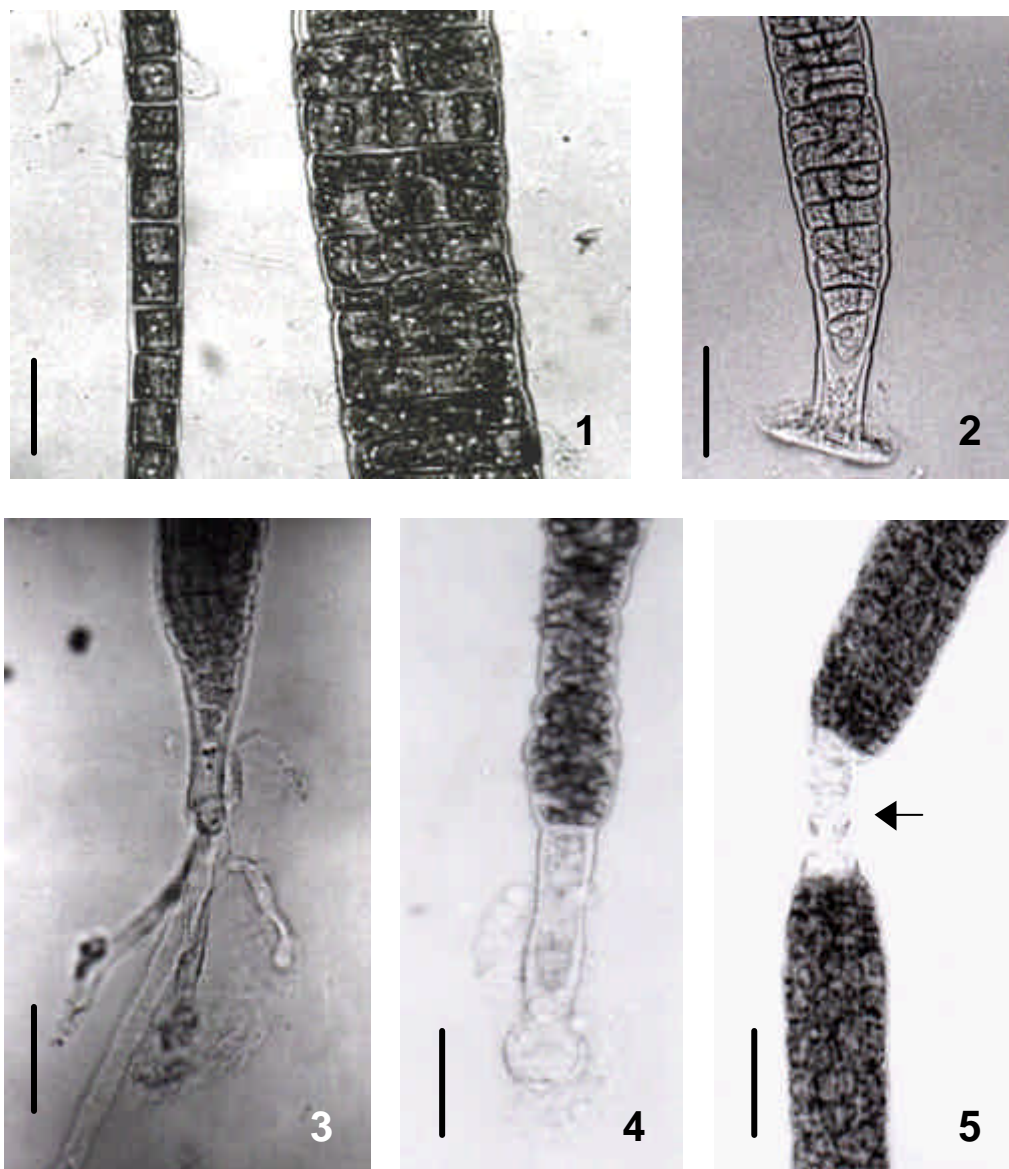
Região multisseriada (Tabela 1)

A amostra coletada em janeiro/1999 (jan99) apresentou o menor valor médio quanto ao diâmetro do filamento ($80,2 \pm 20,55 \mu\text{m}$), enquanto o material analisado em maio/1998 (mai98) detinha o maior valor quanto ao diâmetro ($124,7 \pm 46,29 \mu\text{m}$). O diâmetro celular tomado em agosto/1998 (ago98) foi o menor registrado ($11 \pm 3,67 \mu\text{m}$), enquanto o maior ($20,7 \pm 7,30 \mu\text{m}$) foi observado em dezembro/1998 (dez98). As mesmas populações (ago98 de dez98) manifestaram ainda o menor e o maior valor médio quanto ao comprimento celular, respectivamente $9,4 \pm 2,63 \mu\text{m}$ e $18,7 \pm 6,86 \mu\text{m}$.

A ANOVA revelou diferenças significativas na região multisseriada quanto ao diâmetro do filamento ($F=3,88$; $p<0,001$), diâmetro celular ($F=4,05$; $p<0,001$) e comprimento celular ($F=4,37$; $p<0,001$).

A análise de agrupamento das diferentes amostras (Figura 7), baseada na variação das características morfométricas e morfológicas (Tabela 1), revelou a formação de cinco grupos. O grupo D incluiu as amostras nov98, set98, out98 e jul98, apresentando 83,7% de similaridade entre as amostras; o grupo E compreendeu as amostras mai98, abr98, jun98 e fev98 com 81% de similaridade. As amostras coletadas em dez98 (grupo A), jan99 (grupo B) e ago98 (grupo C) não se agruparam com nenhuma das amostras citadas, constituindo grupos distintos.

As variações sazonais dos parâmetros ambientais selecionados estão expressas na Tabela 2. Correlações significativas ocorreram principalmente entre as características da região unisseriada e alguns dados ambientais, enquanto com a região unisseriada ocorreu apenas uma única correlação (Tabela 5).



Figuras 1–5. *Schizomeris leibleinii*: 1. filamentos com região unisseriada e multisseriada; 2. sistema basal tipo apressório; 3. sistema basal tipo rizóide; 4. sistema basal tipo claviforme; 5. região multisseriada com estrangulamento (seta). [Barras de escalas: 40 μm para Figura 1; 70 μm para Figuras 2–5.]

Tabela 1 – Variáveis morfométricas (média \pm erro padrão) e morfológicas observadas durante 11 meses em uma população de *Schizomeris leibleinii* (P3 – Ribeirão Claro, município de Guapiaçu/SP). n = 20

CARACTERÍSTICAS						
MÊS	REGIÃO UNISSERIADA			REGIÃO MULTISSERIADA		
	SISTEMA BASAL*	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR	DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR
fev/98	a	38,1(\pm 2,29)	16,5(\pm 1,57)	85,1(\pm 5,98)	14,1(\pm 1,28)	15,6(\pm 1,32)
abr/98	a	40,8(\pm 1,27)	16,8(\pm 1,38)	118,5(\pm 6,55)	14,1(\pm 1,41)	14,3(\pm 1,37)
mai/98	a	45(\pm 2,12)	29,7(\pm 3,04)	124,7(\pm 10,35)	14,3(\pm 1,46)	14(\pm 1,20)
jun/98	a	38(\pm 1,36)	22,2(\pm 2,76)	92,1(\pm 7,74)	15,7(\pm 1,37)	14,2(\pm 0,86)
jul/98	a, r	39,8(\pm 1,25)	20,7(\pm 2,36)	98,8(\pm 8,36)	14,3(\pm 1,41)	14,9(\pm 1,45)
ago/98	a, r	39,8(\pm 1,49)	13,5(\pm 1,06)	81,9(\pm 5,47)	11(\pm 0,82)	9,4(\pm 0,59)
set/98	a, r	44,8(\pm 1,27)	18,8(\pm 1,33)	89(\pm 6,66)	16,9(\pm 1,20)	15,9(\pm 0,95)
out/98	a, r	46,4(\pm 2,04)	22,3(\pm 2,35)	95,5(\pm 5,91)	13,5(\pm 0,90)	13,6(\pm 1,42)
nov/98	a, r	58,7(\pm 2,12)	20,2(\pm 1,33)	101,7(\pm 9,36)	17,7(\pm 1,68)	16,7(\pm 1,37)
dez/98	a, l	50,5(\pm 1,52)	19,2(\pm 1,42)	90,5(\pm 6,51)	20,7(\pm 1,63)	18,7(\pm 1,53)
jan/99	a, r	46,7(\pm 1,84)	23,5(\pm 2,15)	80,2(\pm 4,60)	13(\pm 0,92)	11,2(\pm 0,80)

*a = apressório, c = claviforme, l = lobado, r = rizóide.

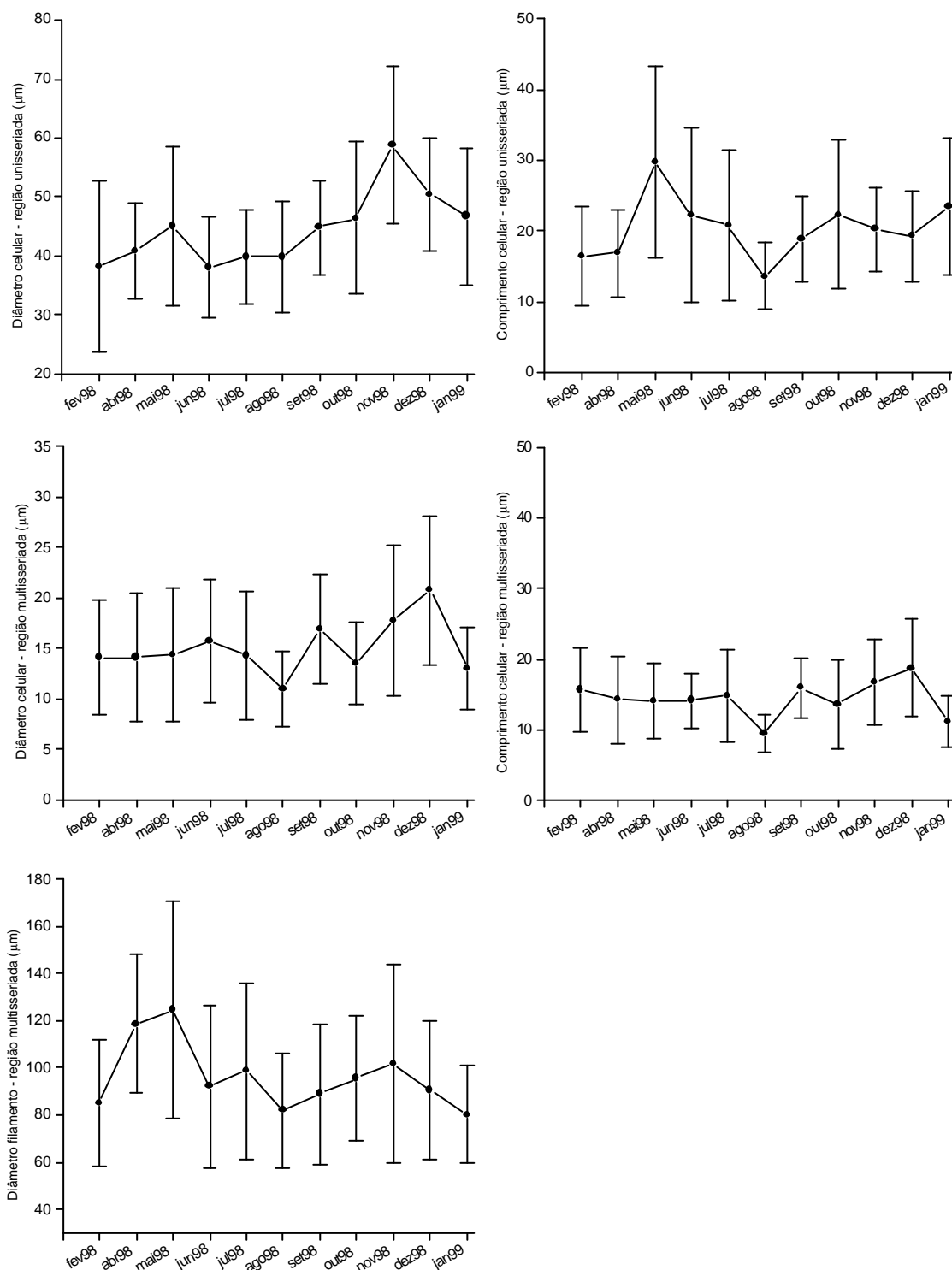


Figura 6 – Variação dos caracteres morfométricos (média e desvio padrão) em *Schizomeris leibleinii* proveniente de P3 (Ribeirão Claro, município de Guapiaçu/SP) durante 11 meses de amostragem (fevereiro/1998; abril/1998–janeiro/1999).

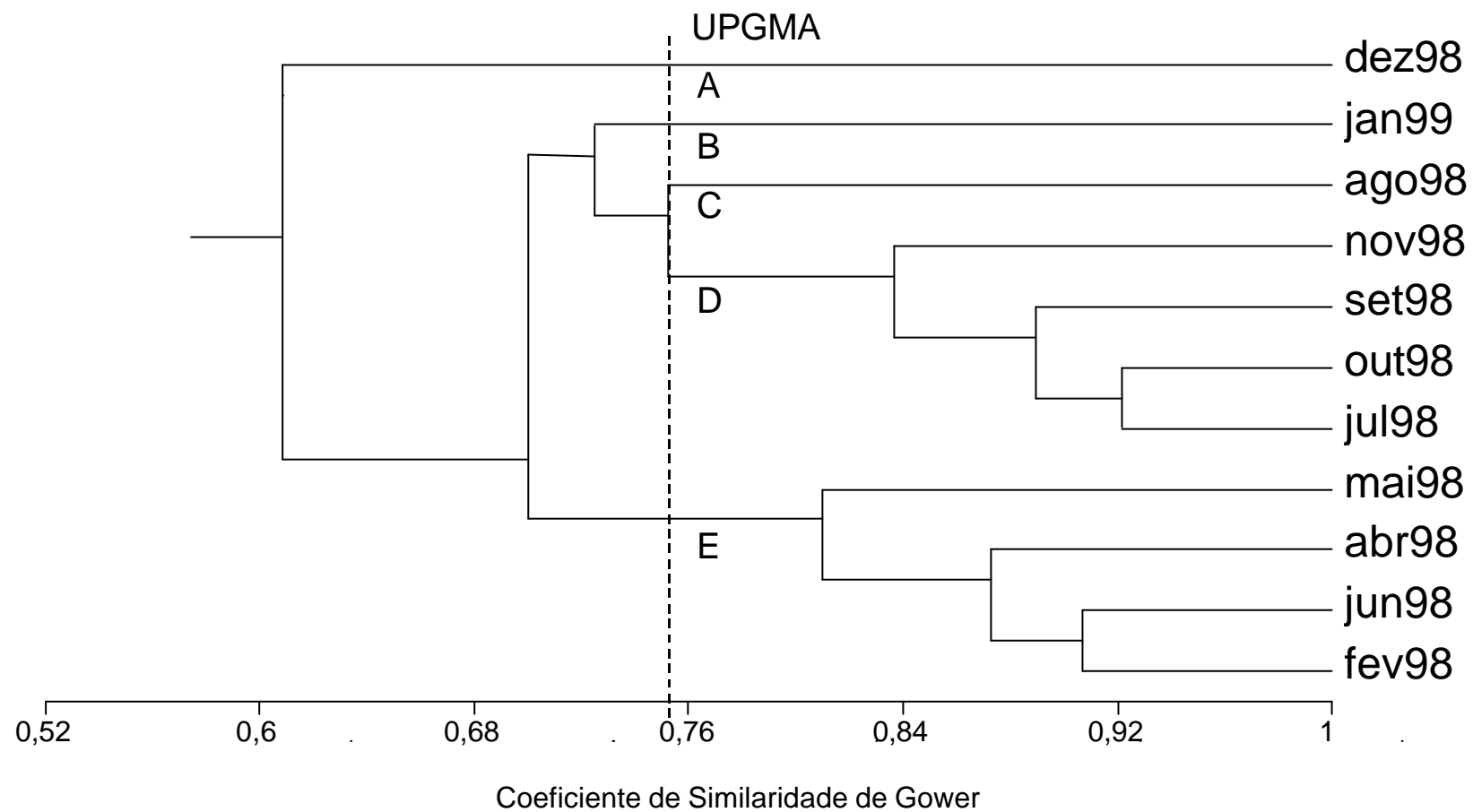


Figura 7 – Análise de grupamento das características morfométricas e morfológicas em 11 amostras de *Schizomeris leibleinii*, coletadas em P3 (Ribeirão Claro, município de Guapiaçu/SP).

Tabela 2 – Parâmetros ambientais selecionados (médias) em 11 meses de amostragem para as populações de *Schizomeris leibleinii* no ponto P3 (Ribeirão Claro, Guapiaçu/SP).

Mês	VARIÁVEIS AMBIENTAIS									
	velocidade* (cm.s ⁻¹)	condutividade (μS.cm ⁻¹)	temperatura (°C)	irradiância* (μmol.cm.s ⁻¹)	turbidez (UNT)	profundidade* (cm)	Ptotal (mg.L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)
fev/98	31	103	27,4	141,4	23	38	0,13	2,7	0,10	4,4
abr/98	29	65	24,3	512,4	26	32	0,79	7,4	0,18	3,7
mai/98	40	137	22,3	401,1	19	30	0,78	9,3	0,22	2,7
jun/98	38	105	21	322,3	17	29	0,84	8,5	0,15	4,4
jul/98	42	221	21,3	391	18	29	0,85	10,2	0,14	5,7
ago/98	35	110	23,3	342,5	37	33	0,87	8,5	0,17	2,1
set/98	45	116	23,7	778,5	18	28	0,88	9,2	0,36	4,8
out/98	32	124	25,4	791	30	40	0,95	7,2	0,14	0,0
nov/98	35	236	26,9	765	35	30	0,92	13	0,14	0,6
dez/98	42	136	27,5	536	33	44	0,53	5,6	0,15	0,0
jan/99	40	150	28,2	412	21	44	0,68	7,4	0,15	0,5

*dados médios com base em n = 10 (ver BRANCO & PEREIRA, 2002)

População P4

Região unisseriada (Tabela 3)

Os filamentos da amostra coletada em dezembro/1998 (dez98) apresentaram o menor valor médio quanto ao diâmetro celular ($35,9 \pm 7,94 \mu\text{m}$), em contrapartida na amostra de maio/1998 (mai98) foi registrada a maior média quanto a esta mesma característica ($64,7 \pm 21,41 \mu\text{m}$). O maior valor do comprimento celular ($30,6 \pm 18,39 \mu\text{m}$) também ocorreu na mesma amostra de maio/1998, enquanto o menor valor observado nesta população ($14,9 \pm 6,78 \mu\text{m}$) ocorreu na amostra coletada em agosto/1998 (ago98).

Dos quatro tipos de sistemas basais de fixação, o tipo apressório esteve presente em todas as amostras, com exceção de janeiro/1999 (jan99) que apresentou apenas rizóides. O tipo rizóide foi observado nas amostras fev98, abr98, mai98, ago98, set98, out98 e nov98. Os sistemas basais do tipo claviforme e lobado não foram encontrados nas análises desta população.

A ANOVA mostrou que na região unisseriada ocorreram diferenças significativas quanto ao diâmetro celular ($F=6,06$; $p<0,001$) e comprimento celular ($F=4,46$; $p<0,001$) entre as amostras comparadas.

Região multisseriada (Tabela 3)

A amostra proveniente de dezembro/1998 (dez98) apresentou o menor valor médio quanto ao diâmetro do filamento ($71,5 \pm 22,46 \mu\text{m}$), enquanto o material analisado em junho/1998 (jun98) deteve o maior valor quanto ao diâmetro ($144,5 \pm 44,81 \mu\text{m}$). O diâmetro celular tomado em outubro/1998 (out98) foi o menor registrado ($10 \pm 4,59 \mu\text{m}$), enquanto o maior ($18,7 \pm 7,41 \mu\text{m}$) foi observado em novembro/1998 (nov98). A mesma amostra coletada em outubro/1998 (out98) apresentou ainda o menor valor médio quanto ao comprimento celular ($11,2 \pm 3,58 \mu\text{m}$), em compensação o maior valor para esta mesma característica ($18,4 \pm 8,29 \mu\text{m}$) foi observado na amostra coletada em maio/1998 (mai98).

A ANOVA mostrou que na região multisseriada houve diferenças significativas quanto ao diâmetro do filamento ($F=7,70$; $p<0,001$), diâmetro celular ($F=3,21$; $p<0,001$) e comprimento celular ($F=3,19$; $p<0,001$).

A análise de agrupamento das diferentes amostras (Figura 9), baseada na variação das características morfométricas e morfológicas (Tabela 3), revelou a composição de três grupos. O grupo A, formado pelas amostras coletadas em dez98, jul98, e jun98, apresentou similaridade de 76,2% entre as amostras e o grupo C, compreendendo as amostras jan99, out98, nov98, abr98, set98, ago98 e fev98, com similaridade de 76,5%. A amostra coletada em maio/1998 (grupo B) não se agrupou com nenhuma das amostras anteriormente citadas, constituindo um grupo distinto.

A dinâmica sazonal dos parâmetros ambientais selecionados encontra-se expressa na Tabela 4. Correlações significativas ocorreram exclusivamente entre as características avaliadas na região multisseriada com alguns dados ambientais (Tabela 5).

Submetendo-se os dados médios dos caracteres morfométricos tanto da população P3 quanto da população P4 ao teste t de *Student* com a finalidade de comparar as duas populações, observou-se que os valores da região unisseriada: diâmetro celular ($t = 1,23$) e comprimento celular ($t = 0,37$); e da região multisseriada: diâmetro do filamento ($t = 0,69$), diâmetro celular ($t = 0,27$) e comprimento celular ($t = 0,58$) não foram significativamente diferentes entre as duas populações.

Tabela 3 – Variáveis morfométricas (média \pm erro padrão) e morfológicas observadas durante 11 meses em uma população de *Schizomeris leibleinii* (P4 – Ribeirão Claro, município de Guapiaçu/SP). n = 20

CARACTERÍSTICAS						
MÊS	REGIÃO UNISSERIADA			REGIÃO MULTISSERIADA		
	SISTEMA BASAL*	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR	DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR
fev/98	a, r	50,3(\pm 2,79)	16,1(\pm 1,98)	76,2(\pm 8,29)	15,8(\pm 1,01)	14,3(\pm 1,07)
abr/98	a, r	36,3(\pm 1,68)	18,7(\pm 2,12)	118(\pm 8,47)	14,2(\pm 1,66)	12,9(\pm 1,06)
mai/98	a, r	64,7(\pm 3,39)	30,6(\pm 4,11)	114,8(\pm 10,3)	18(\pm 2,82)	18,4(\pm 1,85)
jun/98	a	53,7(\pm 2,12)	26,7(\pm 2,49)	144,5(\pm 10,02)	17,1(\pm 1,95)	15,2(\pm 1,06)
jul/98	a	46,1(\pm 2,25)	20,2(\pm 2,37)	86,7(\pm 8,58)	11(\pm 0,69)	16,2(\pm 1,47)
ago/98	a, r	48,4(\pm 1,80)	14,9(\pm 1,52)	111,5(\pm 10,38)	14(\pm 1,39)	15,3(\pm 1,02)
set/98	a, r	54,8(\pm 2,80)	19,8(\pm 1,53)	119,5(\pm 6,92)	15,5(\pm 1,20)	17,7(\pm 1,40)
out/98	a, r	46(\pm 1,49)	21,5(\pm 1,50)	78,7(\pm 3,82)	10(\pm 1,03)	11,2(\pm 0,80)
nov/98	a, r	43,2(\pm 2,37)	19,5(\pm 1,35)	100,2(\pm 7,90)	18,7(\pm 1,66)	13,5(\pm 1,09)
dez/98	a	35,9(\pm 1,26)	25,2(\pm 2,56)	71,5(\pm 5,02)	17,7(\pm 1,32)	16,5(\pm 1,05)
jan/99	r	52(\pm 2,94)	18,4(\pm 1,32)	97,6(\pm 6,13)	16,8(\pm 1,61)	13,9(\pm 0,92)

*a = apressório, c = claviforme, l = lobado, r = rizóide.

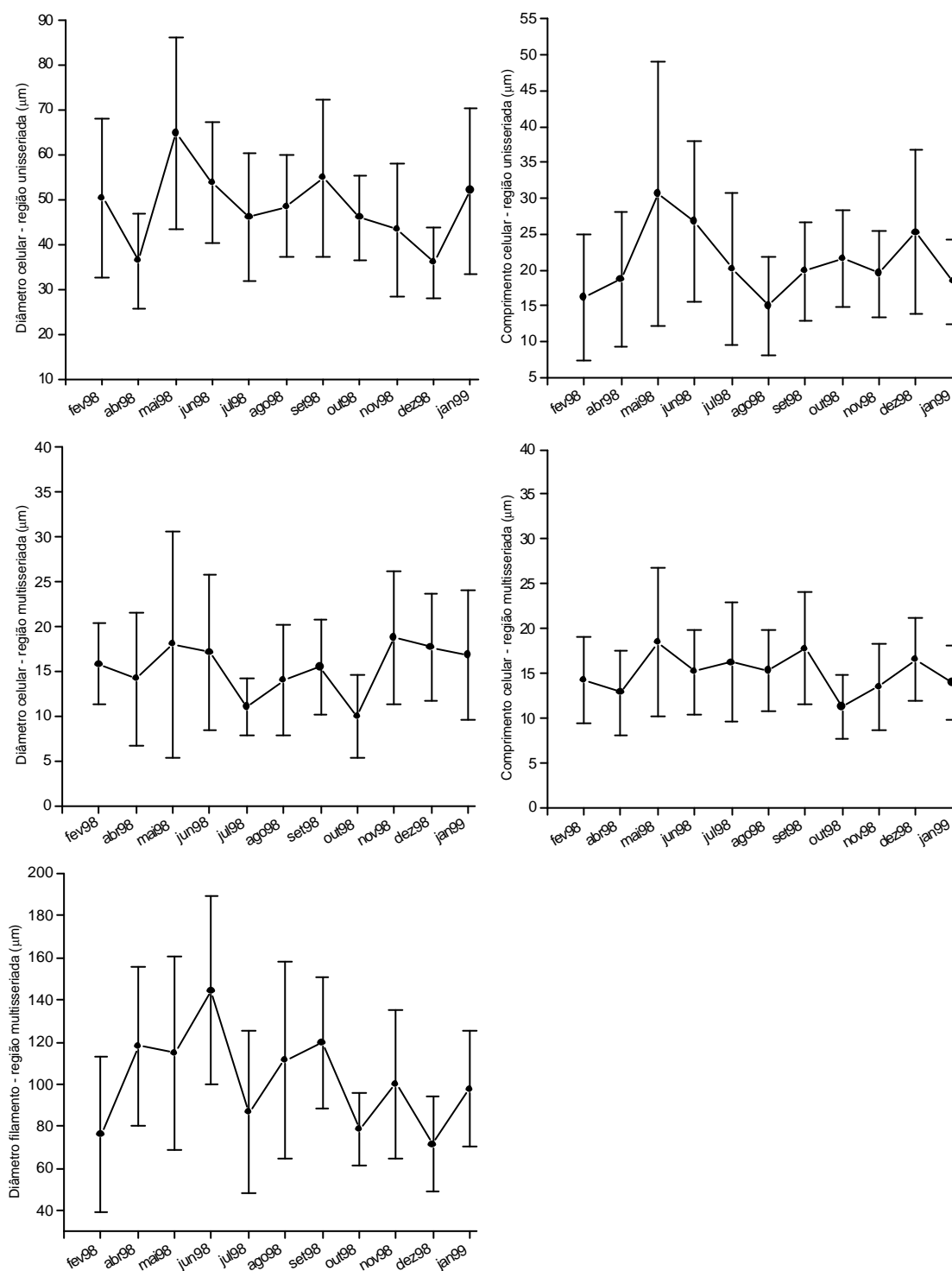


Figura 8 – Variação dos caracteres morfométricos (média e desvio padrão) em *Schizomeris leibleinii* proveniente de P4 (Ribeirão Claro, município de Guapiaçu/SP) durante 11 meses de amostragem (fevereiro/1998; abril/1998–janeiro/1999).

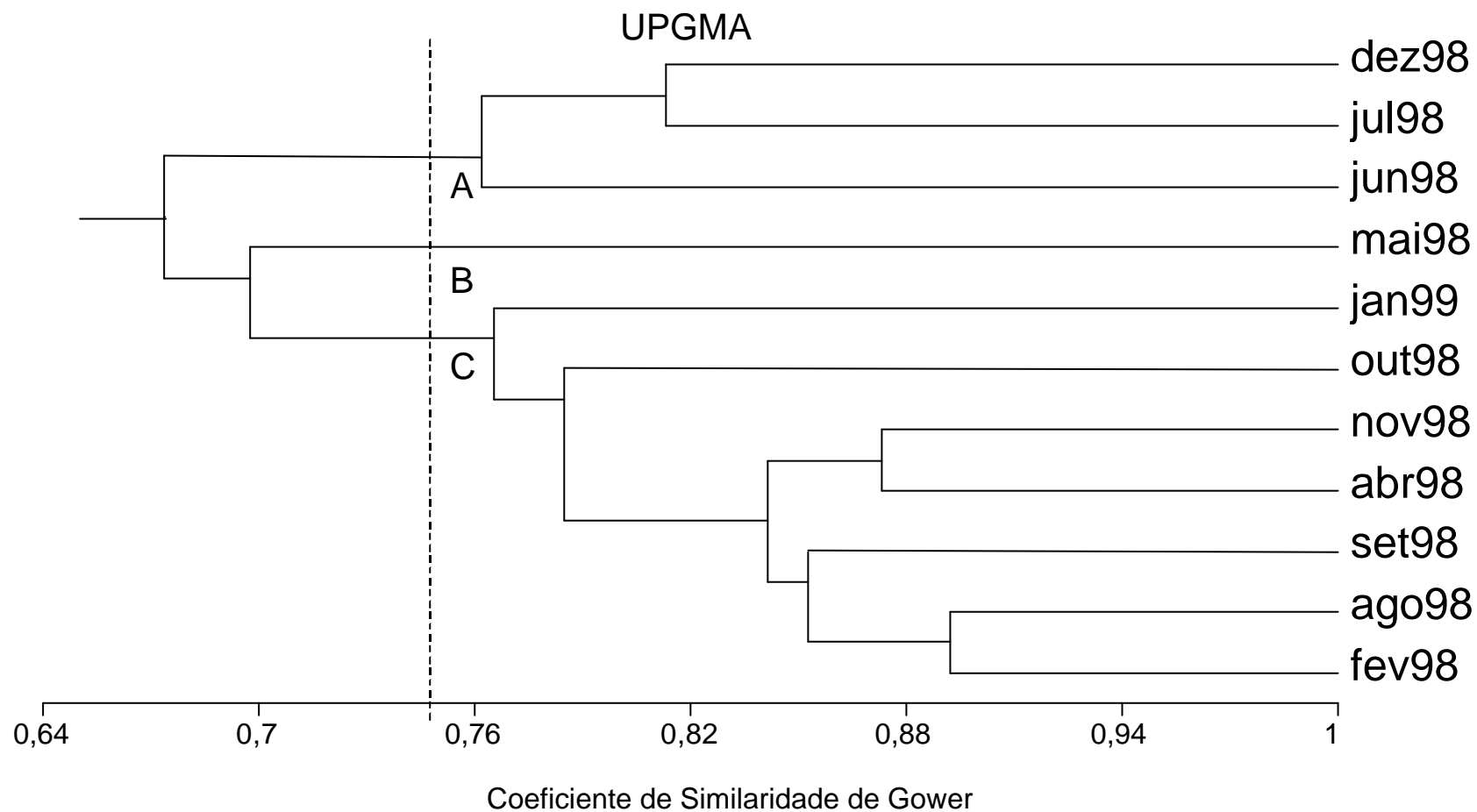


Figura 9 – Análise de agrupamento das características morfométricas e morfológicas em 11 amostras de *Schizomeris leibleinii* coletadas em P4 (Ribeirão Claro, município de Guapiaçu/SP).

Tabela 4 – Parâmetros ambientais selecionados (médias) em 11 meses de amostragem para as populações de *Schizomeris leibleinii* no ponto P4 (Ribeirão Claro, Guapiaçu/SP).

MÊS	VARIÁVEIS AMBIENTAIS									
	velocidade* (cm.s ⁻¹)	condutividade (μS.cm ⁻¹)	temperatura (°C)	irradiância* (μmol.cm.s ⁻¹)	turbidez (UNT)	profundidade* (cm)	Ptotal (mg.L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)
fev/98	46	41	25,4	82,5	30	62	1,58	1,9	0,38	4,0
abr/98	40	80	20,9	93,6	20	75	0,30	4,4	0,35	3,2
mai/98	44	92	19,4	177	16	72	0,40	5,8	0,37	2,9
jun/98	36	152	19,6	621	4	38	0,40	6,6	0,14	2,6
jul/98	43	71	18,8	385	15	58	0,50	7,5	0,19	2,1
ago/98	36	78	21	311	13	59	0,50	7,4	0,17	6,0
set/98	33	89	20,7	265	9	54	0,60	7,9	0,11	1,1
out/98	59	61	23,3	56,6	33	77	0,30	3,3	0,21	0,2
nov/98	36	116	23,1	166,5	9	50	0,70	8,3	0,20	0,0
dez/98	56	108	24,2	59,9	23	67	0,20	3,6	0,44	1,0
jan/99	49	132	25,5	245,7	23	68	0,40	7,8	0,20	0,1

*dados médios com base em n = 10 (ver BRANCO & PEREIRA, 2002)

Tabela 5 – Correlações significativas das variáveis ambientais com as variáveis morfométricas em *Schizomeris leibleinii* nos pontos de amostragem P3 e P4 (Ribeirão Claro). * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

VARIÁVEIS	P3		P4	
	VARIÁVEL	r	VARIÁVEL	r
condutividade	diâmetro celular região unisseriada	0,577*	diâmetro celular região unisseriada	0,601*
irradiância	diâmetro celular região unisseriada	0,685*	diâmetro filamento	0,676*
NO ₃ ⁻	diâmetro celular região unisseriada	- 0,705*	—	—
temperatura	—	—	diâmetro filamento	- 0,627*
turbidez	—	—	diâmetro filamento	- 0,773**
velocidade	—	—	diâmetro filamento	- 0,752**

Variação morfométrica interpopulacional

Os dados quanto às características morfométricas e morfológicas das regiões unisseriada e multisseriada dos filamentos variaram consideravelmente entre as diferentes populações de *S. leibleinii* (Tabela 6).

Região unisseriada (Tabela 6)

A população proveniente do Córrego São José dos Dourados (Dourados) apresentou o maior valor médio quanto ao diâmetro celular ($55,5 \pm 13,58 \mu\text{m}$), enquanto a amostra proveniente de Cultura deteve os menores valores ($25,7 \pm \mu\text{m}$). Os filamentos da amostra coletada no Córrego São Pedro (S. Pedro) apresentaram menor valor médio quanto ao comprimento celular para esta área do filamento ($15,7 \pm 9,63 \mu\text{m}$); em contrapartida na população do Rio Verde (R. Verde) foi registrada a maior média quanto ao comprimento celular ($25 \pm 8,74 \mu\text{m}$).

A ocorrência conjunta dos quatro tipos de sistemas basais de fixação, apressório, claviforme, lobado e rizóide (Figuras 25–38), foi observada apenas na população Cultura. Os sistemas do tipo apressório e rizóide ocorreram em todas as populações analisadas, com exceção da do Córrego Piedade (Piedade), que apresentou apenas os tipos claviforme, lobado e rizóide. O sistema basal do tipo claviforme foi encontrado também na amostra Maquininha, enquanto o tipo lobado também esteve presente nas amostras Favorita, R. Claro e Dourados.

A ANOVA mostrou que o diâmetro celular da região unisseriada nas populações foi diferente ($F=31,80$; $p<0,001$). Diferença significativa foi encontrada também, quando a mesma análise foi feita para comparar o comprimento celular entre as populações ($F=3,21$; $p<0,001$).

Região multisseriada

O menor diâmetro da região multisseriada ($49,2 \pm 20,60 \mu\text{m}$) foi encontrado na população originária da Fazenda Favorita (Favorita), enquanto o maior diâmetro ($112 \pm 16,5 \mu\text{m}$) foi observado nos filamentos provenientes do

Córrego Canela (Canela). A mesma amostra do Canela exibiu também o menor valor médio quanto ao comprimento celular ($10\pm 4,59\mu\text{m}$), sendo que o maior valor para esta característica ($19,7\pm 6,38\mu\text{m}$) foi apresentado pela população do Rio Verde (R. Verde). Em relação ao diâmetro celular o menor valor ($9,6\pm 3,25\mu\text{m}$) foi obtido na população coletada no S. Pedro e o maior ($22,5\pm 8,96\mu\text{m}$) no Córrego Borá (Borá).

A ANOVA mostrou, em relação à região multisseriada, que diferenças significativas ocorreram quanto ao diâmetro celular ($F=7,48$; $p<0,001$), comprimento celular ($F=7,07$; $p<0,001$) e diâmetro dos filamentos ($F=24,07$; $p<0,001$) quando as diferentes populações foram comparadas entre si.

A análise de agrupamento das populações (Figura 10), baseada na variação das características morfométricas e morfológicas (Tabela 6), revelou a formação de seis grupos. O grupo F incluiu as populações Dourados, Favorita e R. Claro, com 80,9% de similaridade entre si. O grupo E compreendeu as populações do Canela, Borá, S. Pedro e R. Preto, com 77,3% de similaridade entre estas populações. As populações Cultura, Piedade, Maquininha e R. Verde não se agruparam com nenhuma das populações citadas, no nível de similaridade adotado (75%), constituindo grupos distintos e denominados, respectivamente, A, B, C e D.

Tabela 6 – Variáveis morfométricas (média \pm erro padrão) e morfológicas observadas em 11 populações de *Schizomeris leibleinii* (10 naturais e 1 cultura). n = 20

CARACTERÍSTICAS						
POPULAÇÕES	REGIÃO UNISSERIADA			REGIÃO MULTISSERIADA		
	SISTEMA BASAL*	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR	DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR
Cultura	a, c, l, r	25,7(\pm 1,94)	16,2(\pm 1,65)	51,1(\pm 4,08)	15,1(\pm 1,25)	19,4(\pm 1,79)
Piedade	c, l, r	34,1(\pm 2,26)	24,2(\pm 2,06)	51,5(\pm 4,85)	10,7(\pm 0,90)	15(\pm 0,88)
Maquininha	a, c, r	36,5(\pm 2,46)	23(\pm 2,0)	108(\pm 2,95)	16,2(\pm 1,30)	16,5(\pm 1,20)
R. Verde	a, r	28,7(\pm 1,63)	25(\pm 1,95)	81,5(\pm 6,94)	12,7(\pm 1,11)	19,7(\pm 1,42)
Canela	a, r	42,6(\pm 1,16)	21,2(\pm 1,73)	112(\pm 3,68)	13(\pm 0,91)	10(\pm 1,02)
Borá	a, r	50,5(\pm 1,59)	18(\pm 1,78)	100,5(\pm 4,7)	22,5(\pm 2,0)	14(\pm 0,85)
S. Pedro	a, r	48,6(\pm 1,38)	15,7(\pm 2,15)	82,7(\pm 5,18)	9,6(\pm 0,72)	12,5(\pm 1,23)
R. Preto	a, r	27,9(\pm 1,19)	16,2(\pm 1,78)	58,7(\pm 5,66)	14(\pm 0,95)	12,4(\pm 0,90)
Dourados	a, l, r	55,5(\pm 2,15)	20,6(\pm 1,41)	90,5(\pm 3,05)	16,2(\pm 1,61)	17(\pm 1,37)
Favorita	a, l, r	43,4(\pm 1,64)	23,5(\pm 1,95)	49,2(\pm 4,60)	14,8(\pm 1,36)	11(\pm 0,77)
R. Claro	a, l, r	46,4(\pm 2,04)	24,3(\pm 3,17)	95,5(\pm 5,91)	13,5(\pm 0,89)	13,6(\pm 1,41)

*a = apressório, c = claviforme, l = lobado, r = rizóide.

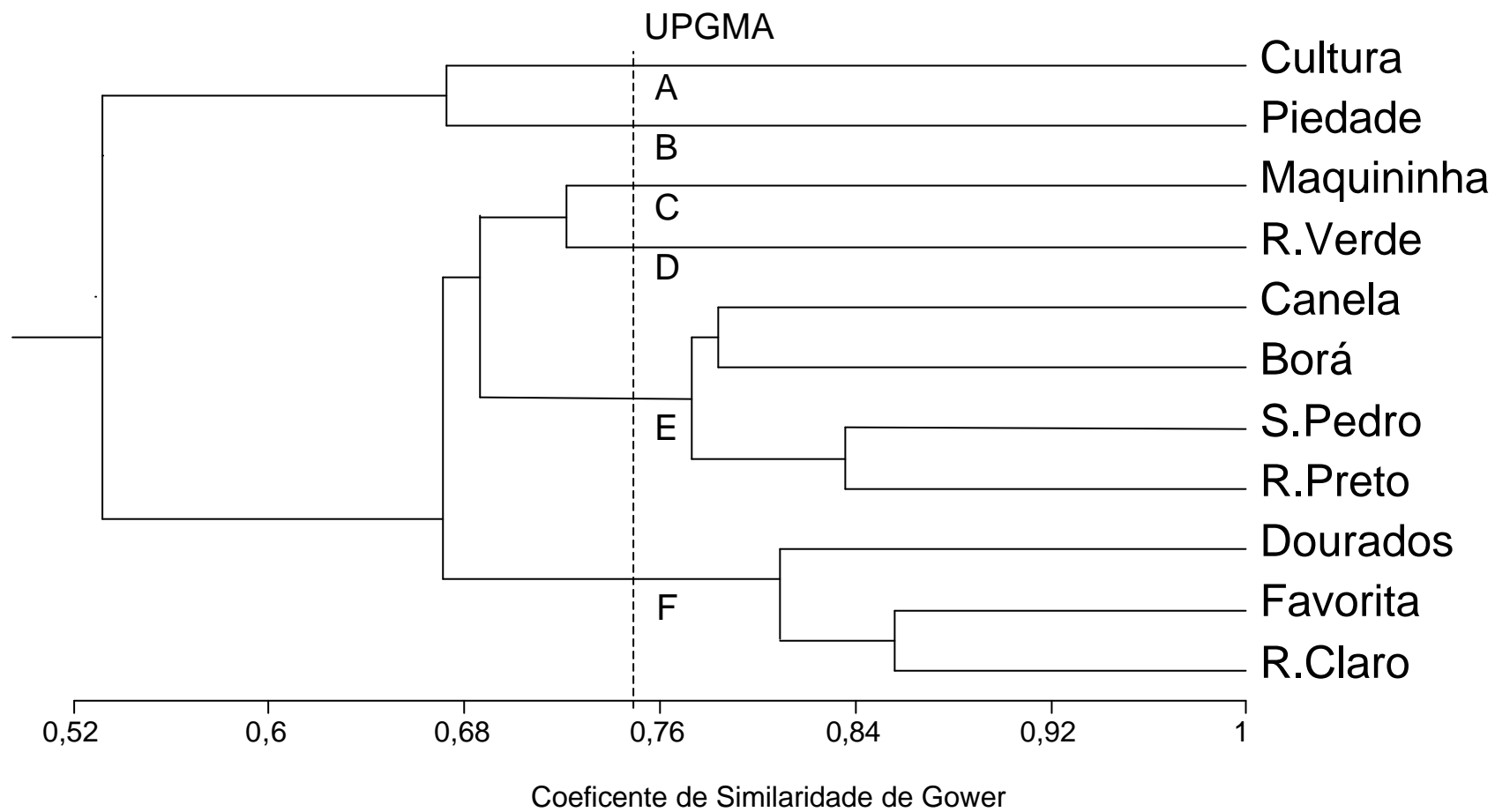


Figura 10 – Dendrograma da análise de agrupamento das características morfométricas e morfológicas em *Schizomeris leibleinii* de diferentes populações.

As características forma e/ou posição dos cloroplastos nas células, regularidade das células na região multisseriada dos filamentos, forma do ápice e presença de septos transversais (“anéis”) nos filamentos (Figura 5), foram observadas em todo o material presentemente analisado. Os cloroplastos observados eram laminares e parietais, a disposição das células mostrou-se regular dependendo do diâmetro do filamento (conseqüentemente, dependendo do estágio de desenvolvimento do mesmo), os ápices eram truncados ou arredondados e a presença de “anéis” ocorreu em todos os filamentos.

Os dados relativos à variação dos caracteres morfométricos e morfológicos em todas as populações estudadas de *S. leibleinii* encontram-se sumarizados na Tabela 7.

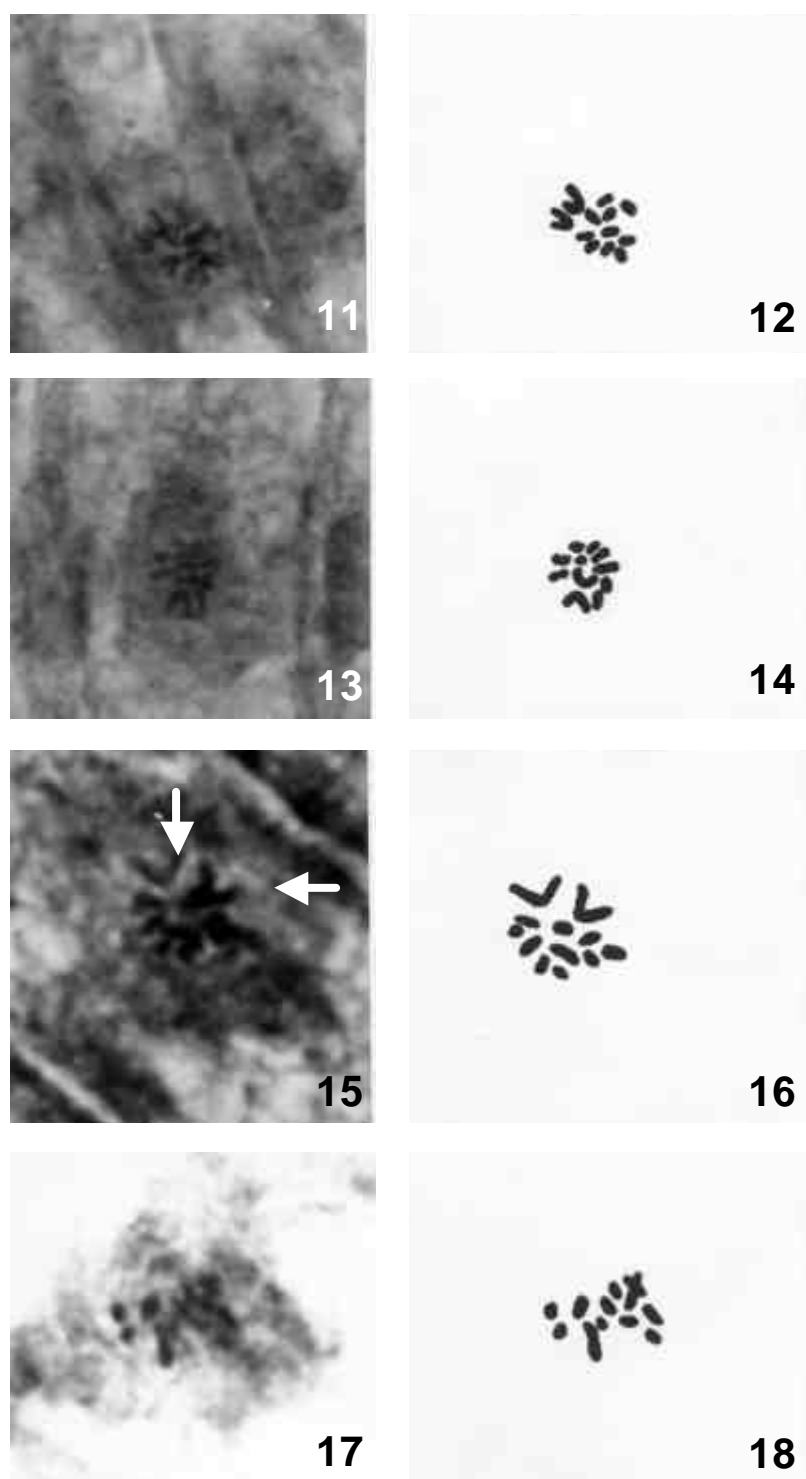
Cariologia

De um modo geral as células que apresentaram as divisões celulares que permitiram as observações dos cromossomos ocorreram em qualquer região do filamento, sendo que este não apresentou nenhuma área de maior atividade mitótica. As observações cariológicas (Figuras 11–18) efetuadas nestas células mostraram um número de cromossomos igual a 12 ($n = 12$).

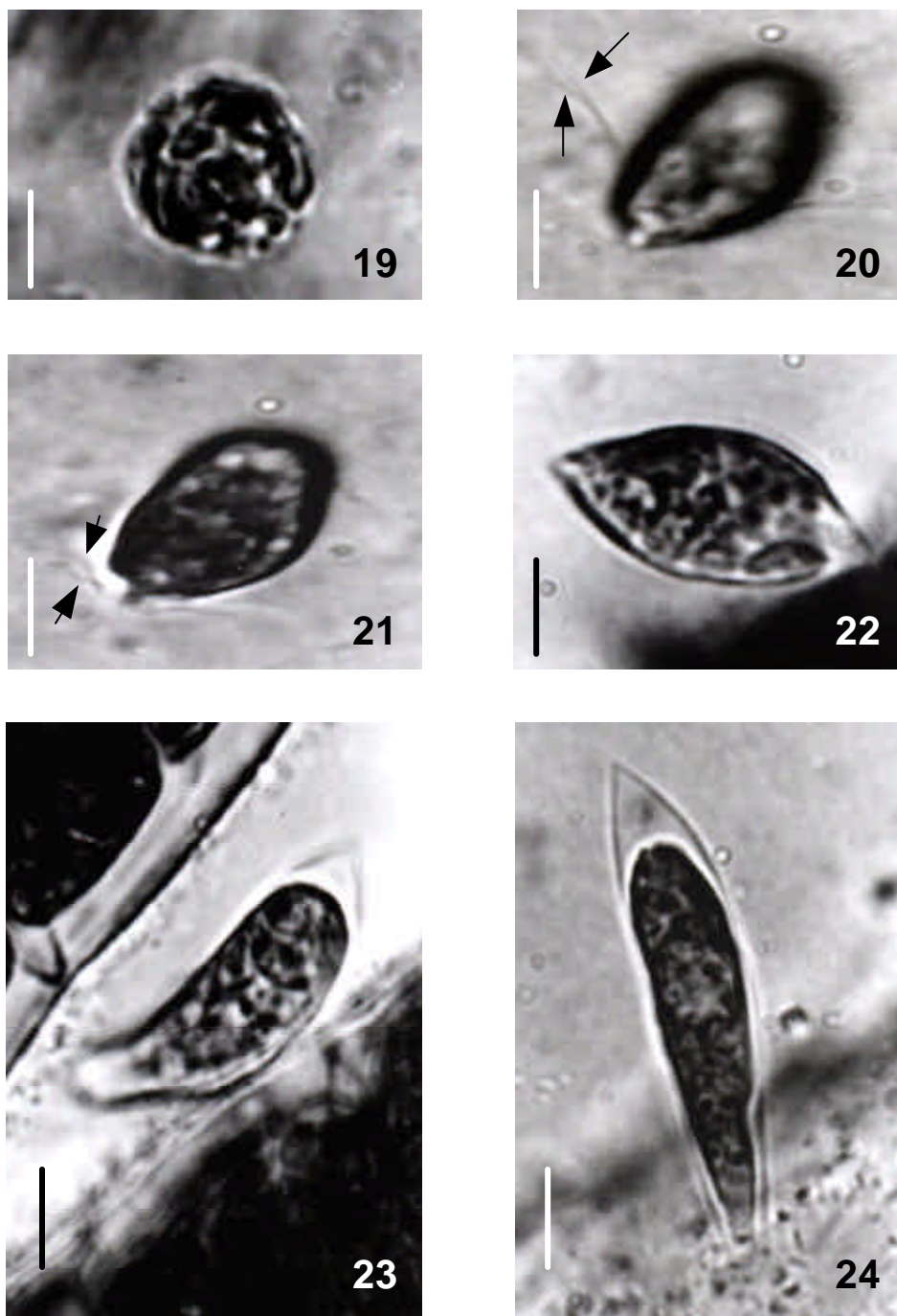
Verificou-se que estes se mostraram como pequenos bastões ou pontos, além disso, a alga em questão apresentou um par de cromossomos nitidamente curvos e bem maiores que os demais (Figuras 11–16). Pelo fato dos cromossomos serem de tamanho reduzido não foi possível medi-los e nem mesmo efetuar observações detalhadas em sua estrutura, como por exemplo, se possuíam centrômeros.

Zoosporogênese

Os zoósporos analisados (Figuras 19–24) foram liberados lateralmente a partir de filamentos unisseriados ou multisseriados. Quanto à forma (Figuras 19–22) estas células apresentaram-se esféricas ou levemente ovaladas com 10–12 μm de diâmetro e/ou 10–15 μm de comprimento, são dotados de 4 flagelos (Figuras 20 e 21) e com vários grânulos. Após algum tempo de movimentação os zoósporos cessaram os movimentos e alongaram-se produzindo filamentos jovens de *Schizomeris* (Figuras 23 e 24).



Figuras 11–18. *Schizomeris leibleinii*: 11. cromossomos, $n = 12$; 12. cromossomos, $n = 12$ (desenho câmara clara); 13. $n = 12$; 14. $n = 12$ (desenho câmara clara); 15. cromossomos curvos (setas); 16. cromossomos curvos (desenho câmara clara); 17. $n = 12$; 18. $n = 12$ (desenho câmara clara). [Figuras 11–14 = 1600x, Figuras 15–18 = 3400x]



Figuras 19–24. Zoosporogênese: 19. zoósporo; 20, 21. zoósporos com flagelos (setas); 22. zoósporo germinando; 23, 24. filamentos jovens produzidos por zoósporos. [Barras de escalas: 5 μ m para as Figuras 19–22; 10 μ m para as Figuras 23 e 24.]

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Variação morfométrica

Os resultados obtidos a partir da análise morfométrica das duas populações de *Schizomeris leibleinii* estudadas mensalmente (temporalmente) revelou considerável variação das características das regiões unisseriada e multisseriada dos talos, bem como dos sistemas basais.

As diferenças estatisticamente significativas obtidas através da ANOVA para diâmetro e comprimento celular da região unisseriada, bem como para diâmetro do filamento e diâmetro e comprimento celular da região multisseriada, comprovam a plasticidade dos indivíduos, provavelmente em resposta às variações ambientais. Alguns indicativos desta relação foram constatados a partir das correlações significativas entre características morfométricas e parâmetros ambientais (Tabela 5). Dados semelhantes foram encontrados por BRANCO & NECCHI (1998), para *Stigeoclonium helveticum* Vischer e *Chaetophora elegans* (Roth) C. Agardh (Chaetophorales) quando as mesmas tiveram seus microhábitats estudados. NECCHI et al. (1990), durante estudo fenológico em um riacho de 3ª ordem no estado de São Paulo, também observaram variações nas dimensões de *Compsopogon coeruleus* (Balbis ex C. Agardh) Montagne (Rhodophyta).

Além das variações encontradas para as características das regiões multi e unisseriadas dos filamentos, outro dado importante foi a variação da forma do sistema basal apresentado pelos indivíduos ao longo dos 11 meses de análise. A presença de sistema basal tipo apressório foi o mais comum e freqüente nas duas populações, mas a ocorrência do tipo rizoidal, e até mesmo lobado, fornecem importante informação taxonômica para o gênero na diferenciação de espécies (Tabelas 1 e 3).

Entretanto, embora esta grande amplitude de variação tenha sido numericamente marcante, os dados da análise de agrupamento revelaram grande semelhança entre as amostras dos diferentes meses de coleta das populações, resultando na formação de grupos distintos, mas que

apresentaram, entre si, similaridade acima de 60% das características analisadas. Este dado demonstra que uma população mantém suas características básicas, mesmo apresentando amplos limites de variação.

A amplitude da variação dos caracteres morfométricos das regiões multi e unisseriadas foi avaliada com o teste *t* de *Student* entre as duas populações amostradas mensalmente e mostrou que ambas são morfometricamente semelhantes entre si, corroborando com os indicativos de que fatores do ambiente influenciam a morfometria de *S. leibleinii*. Em estudos realizados em *Compsopogon coeruleus*, a variação intrapopulacional de caracteres quantitativos tem sido atribuída a fatores ambientais como temperatura, turbidez ou velocidade da correnteza (NECCHI et al., 1990; NECCHI & PASCOALOTO, 1995). FRANCKE (1982), estudando a morfologia e a amplitude ecológica em algumas espécies de *Stigeoclonium* Kützing (Chaetophorales), notou que a largura das células dos filamentos prostrados aumentava em culturas deficientes em fósforo ou nitrogênio em decorrência da produção de zoósporos por estas células. Outra clara tendência notada pelo autor foi o aumento na largura das células dos filamentos prostrados ou eretos nas linhagens estudadas (*S. tenue* (Agardh) Kützing, *S. farctum* Berthold e *S. aestivale* (Hazen) Collins) devido a altas concentrações de amônio-N nos meios de cultura.

A comparação entre populações de diferentes localidades mais uma vez revelou a ampla variação das características morfométricas avaliadas. Resultados da ANOVA demonstraram que as populações diferiram com relação às dimensões do diâmetro e do comprimento celular da região unisseriada e do diâmetro e comprimento celular e diâmetro do filamento da região multisseriada. Tais dados corroboram os resultados encontrados para a análise morfométrica em mesmas populações, evidenciando a atuação do ambiente na expressão morfológica dos indivíduos de *S. leibleinii*, produzindo uma ampla variação nas características populacionais.

A forma do sistema basal de fixação mostrou grande variabilidade entre as populações estudadas e até mesmo dentro das populações. Embora o tipo apressório também tenha sido o mais comumente encontrado, outras formas

como sistemas rizoidais, lobados e claviformes foram observados nas populações avaliadas, devendo-se salientar que, em uma mesma população, até 4 tipos distintos de sistemas basais foram encontrados.

Da mesma maneira que para as populações P3 e P4, a análise de grupamento revelou a formação de grupos distintos que, entretanto, possuem similaridade superior a 52% entre as populações estudadas. É interessante notar que a população denominada Cultura derivou-se da mesma população proveniente do Ribeirão Claro (P3) e, devido às alterações provocadas pelo crescimento em meio artificial, estas duas populações não se associaram intimamente de acordo com a análise efetuada. Este dado, mais uma vez, corrobora os resultados obtidos, indicando que a variação morfométrica, dentro de alguns limites, é bastante acentuada e depende do ambiente onde o organismo desenvolve-se. Todavia, alterações fenotípicas são relativamente freqüentes em algas pertencentes à ordem Chaetophorales que se desenvolvem em meios de cultura sob diferentes condições (COX & BOLD, 1966; HARDING & WHITTON, 1978; JOHNSTONE, 1978; FRANCKE & TEN CATE, 1980; FRANCKE, 1982; SIMONS et al., 1986). JOHNSTONE (1978), estudando a plasticidade morfológica em *Draparnaldia* Bory (Chaetophorales), observou que muitos dos isolados (amostras) desta alga, quando submetidos a diversos tratamentos envolvendo íons inorgânicos como sódio, potássio, cálcio e nitrato, não se desenvolveram verdadeiramente como *Draparnaldia*. Porém, segundo JOHNSTONE (1978), os fatores químicos não seriam os únicos responsáveis pela plasticidade fenotípica de *Draparnaldia* na natureza.

Embora a plasticidade fenotípica das Chaetophorales seja reconhecidamente ampla, tais variações ocorrem entre limites relativamente definidos. A interpretação equivocada das expressões morfológicas ou alterações de fenótipos pode levar a afirmações pouco aceitáveis. CAMPBELL & SARAFIS (1972), avaliando amostras de *Schizomeris leibleinii* na natureza e em cultura, afirmaram que a mesma seria uma forma de resistência adotada por *Stigeoclonium tenue* sob condições desfavoráveis do hábitat. Segundo as autoras, o polimorfismo em *Stigeoclonium* é maior do que o conhecido, pois todas as formas e estágios de desenvolvimento que foram obtidos em cultura e

encontrados na natureza seriam formas de crescimento desta alga. Assim, CAMPBELL & SARAFIS (1972) consideraram *Schizomeris* Kützing, *Pearsoniella* Fritsch & Rich, *Uronema* Lagerheim, *Protoderma* Kützing emend. Borzi e alguns estágios cocóides como todos sendo ecófenos de *Stigeoclonium tenue*. PEREIRA & PARRA (1984) quando efetuaram o estudo de algas bentônicas do Chile também encontraram filamentos de *Schizomeris leibleinii* crescendo em cultura com *Stigeoclonium tenue* confirmando as observações de CAMPBELL & SARAFIS (1972). No entanto, estudos citológicos realizados por MATTOX et al. (1974) em *Schizomeris leibleinii* mostraram que diferenças quanto aos zoósporos, a estrutura de pirenóides e cloroplastos e ao número de cromossomos, seriam suficientes para distinguir o gênero *Schizomeris* do gênero *Stigeoclonium*, sendo, portanto, distintos um do outro.

Mesmo que a variação na expressão dos indivíduos de *S. leibleinii* seja ampla, as análises populacionais realizadas indicam a constituição de um grupo relativamente coeso. O estudo de populações ao longo do tempo mostrou diferenças significativas nas características morfométricas em diferentes meses de amostragem, mas as análises de grupamento revelaram grande similaridade entre todos os grupos formados ($P3 \cong 60\%$ e $P4 \cong 66\%$).

Como seria de esperar, devido às condições ambientais distintas, as diferenças e amplitudes entre populações de diferentes localidades foram mais acentuadas que as observadas nas mesmas populações. Entretanto, do mesmo modo que para P3 e P4, pode se considerar que o grupamento obtido tem alto grau de similaridade (52%). Dessa forma é plausível supor mais uma vez que fatores ambientais, relacionados às diferentes localidades em que se desenvolvem as populações de *S. leibleinii*, podem estar influenciando a morfometria dos filamentos algais.

É provável também que a presença freqüente de filamentos jovens nas populações amostradas, seja outro fator responsável pela intensa variação morfométrica, já que a alga aparenta ter um crescimento rápido quando em cultura, demonstrando mais uma vez que fatores ambientais atuam na expressão morfométrica (ver detalhes no capítulo 2).

A utilização da forma do sistema basal de fixação como característica taxonômica para distinção de espécies, como proposto por PRASAD & SRIVASTAVA (1963), não encontra suporte em dados de literatura e nos resultados obtidos neste trabalho (Tabelas 7 e 8, Figuras 25–38). WATSON & TILDEN (1930) citaram, para amostras de *S. leibleinii* coletadas em Minnesota (EUA), a ocorrência de sistema basal de fixação do tipo “bulbo”, abruptamente arredondado ou alargado (que pode ser entendido como claviforme) que seria típico da espécie *S. irregularis*. PRASAD & SRIVASTAVA (1963) observaram, em amostras *S. leibleinii* mantidas em cultura, apenas os sistemas de fixação do tipo lobado ou ramificado (Figuras 25–27). PATEL (1967) citou para esta espécie os sistemas de fixação do tipo disco (característico de *S. indicum*), além dos tipos rizoidal e lobado (Figuras 28–32), destoando de trabalhos anteriores que mencionam apenas os sistemas basais do tipo rizoidal e lobado para *S. leibleinii*. RINO & SANTOS (1968) descreveram *S. leibleinii* portando discos de fixação (apressórios), para material coletado em Portugal. SARMA & CHAUDHARY (1975) observaram, em amostras de *S. leibleinii* provenientes da natureza e de material em cultura, a presença de sistemas basais do tipo rizoidal e lobado (claviforme), considerando, assim, esta característica como não confiável taxonomicamente já que o sistema basal de fixação claviforme seria típico de *S. irregularis*. YADAVA & PANDEY (1980) verificaram a presença de rizóides, rizóides dicotômicos e “fizóides com bases dilatadas” (claviformes) em amostras mantidas em cultura e identificadas como *S. leibleinii* (Figuras 19–22). Em nossas observações a presença de sistemas basais do tipo rizóide e apressório, este último considerado típico de *S. indicum*, foi freqüente, sendo que os tipos claviforme e lobado também foram encontrados principalmente no material mantido em cultura. Além disso, os filamentos que foram avaliados do material denominado Cultura derivaram de subamostras do Ribeirão Claro (P3) e, no entanto, apresentaram todos os quatro tipos de sistemas basais de fixação, enquanto este último deteve apenas três tipos. A análise do presente material sugere que *S. leibleinii* pode apresentar todos os sistemas basais descritos para as demais espécies do gênero.

Todavia, as observações pertinentes aos sistemas basais, efetuadas pelos autores citados referem-se principalmente a amostras que cresciam em meios de cultura diversos, como por exemplo, o meio de Godward (PRASAD & SRIVASTAVA, 1963; CHOWDARY, 1967a; PATEL, 1967; SARMA & CHAUDHARY, 1975), solução de Knop (PRASAD & SRIVASTAVA, 1963; PATEL, 1967), solução de Benecke (PRASAD & SRIVASTAVA, 1963) e meio de Bold (YADAVA & PANDEY, 1980). Segundo FRANCKE (1982), algumas espécies de *Stigeoclonium* (Chaetophorales), que cresciam em culturas com altas concentrações de nitrogênio (56 mg.L^{-1}), contrastando com altas concentrações de fósforo, tiveram a forma dos talos prostrados (sistema basal) afetados (linhagens de *Stigeoclonium tenue* e *S. farctum*), fazendo com que as mesmas manifestassem talos prostrados diferentes dos característicos das espécies. SIMONS et al. (1986) verificando talos prostrados (sistemas basais) em *Stigeoclonium*, notaram que os mesmos variavam morfológicamente, em relação ao material recolhido no campo, quando mantidos em cultura. Ainda, de acordo com SIMONS et al. (1986), a morfologia do sistema prostrado em *Stigeoclonium* também teria um significado funcional quanto à preferência aos tipos de substratos colonizados por este táxon. Mesmo sabendo que em alguns representantes da ordem Chaetophorales o polimorfismo é freqüente (p.ex. *Stigeoclonium*), baseando-se em nossas análises, nas inconsistentes denominações encontradas em literatura e na freqüência de citações de apressório para *Schizomeris leibleinii*, acreditamos que os sistemas basais de fixação do tipo claviforme e lobado sejam meramente estágios intermediários de desenvolvimento dos tipos apressório e rizóide, limitando a espécie a apenas dois sistemas de fixação ao substrato no indivíduo adulto (Figura 22–23). A partir disto, é possível que *S. leibleinii*, apesar de ter uma ampla variação morfométrica, apresente os sistemas basais como características morfológicas estáveis. Além disso, o tipo de hábitat onde comumente se encontra *S. leibleinii* (ambiente lótico) e a estratégia de vida apresentada por esta espécie (ver detalhes capítulo 2), torna necessária a presença destas duas estruturas de fixação, principalmente dependendo do substrato que a mesma ocupe.

Além destas características, WATSON & TILDEN (1930) e PRASAD & SRIVASTAVA (1963) mencionam que FRITSCH & RICH (1924) evidenciaram a diferença entre *S. leibleinii* e *S. irregularis* através da irregularidade na disposição das células na região multisseriada apresentada pelos filamentos de *S. irregularis*. A respeito da disposição das células na região multisseriada dos filamentos, tanto no material presentemente analisado quanto no estudado por YADAVA & PANDEY (1980), ocorreram filamentos com a região multisseriada apresentando disposição das células de maneira regular ou irregular. Os estudos de PRASAD & SRIVASTAVA (1963) indicam que o arranjo regular ou irregular das células nesta região depende do estágio de desenvolvimento dos filamentos, sugerindo que FRITSCH & RICH (1924) não tenham analisado todos os estágios de desenvolvimento nesta alga.

Outra característica adicional considerada importante é a presença de septos transversais como “anel” em *S. leibleinii*, enquanto tal estrutura não é conhecida em *S. irregularis* e *S. indicum* (PRASAD & SRIVASTAVA, 1963). A presença de septos transversais como “anéis” no material analisado foi constatada na maioria das amostras, sendo que, freqüentemente a fragmentação dos filamentos ocorria nesta região. No entanto, mediante as outras características avaliadas para a distinção das três espécies de *Schizomeris*, não nos parece que esta informação seja confiável, já que ela presta-se apenas para distinguir apenas *Schizomeris leibleinii* de *S. irregularis* e *S. indicum*, pois ambas não apresentam tal estrutura.

Os dados obtidos neste trabalho, bem como da literatura especializada (Tabela 7), demonstram que as características morfométricas de *Schizomeris leibleinii* podem ser muito variáveis. No entanto, mesmo com amplos limites de variação, a espécie pode ser considerada bem definida taxonomicamente. NECCHI et al. (1990) concluíram que características morfométricas consideradas como importantes caracteres na taxonomia de *Compsopogon* Montagne (Rhodophyta) podem ser conservados como critérios úteis se limites bem definidos puderem ser estabelecidos. No caso de *S. leibleinii* estes limites, podem ser definidos. Portanto em face dos resultados pode-se considerar que, embora varie em amplos limites, as populações apresentam relativamente alto

nível de similaridade e podem ser consideradas uma mesma entidade taxonômica.

Desta maneira, considerando-se que as informações taxonômicas das espécies *S. irregularis* e *S. indicum* são incompletas (Tabela 8), que as mesmas foram citadas e/ou descritas apenas algumas vezes pela literatura e os dados presentemente obtidos para *S. leibleinii*, parece-nos que as espécies em questão não estão bem caracterizadas, sendo semelhantes a *S. leibleinii*, quanto a morfometria e morfologia, sugerindo que o gênero *Schizomeris*, da família Schizomeridaceae, seja monoespecífico.

Tabela 7 – Características morfológicas observadas em *Schizomeris leibleinii* de diferentes localidades.

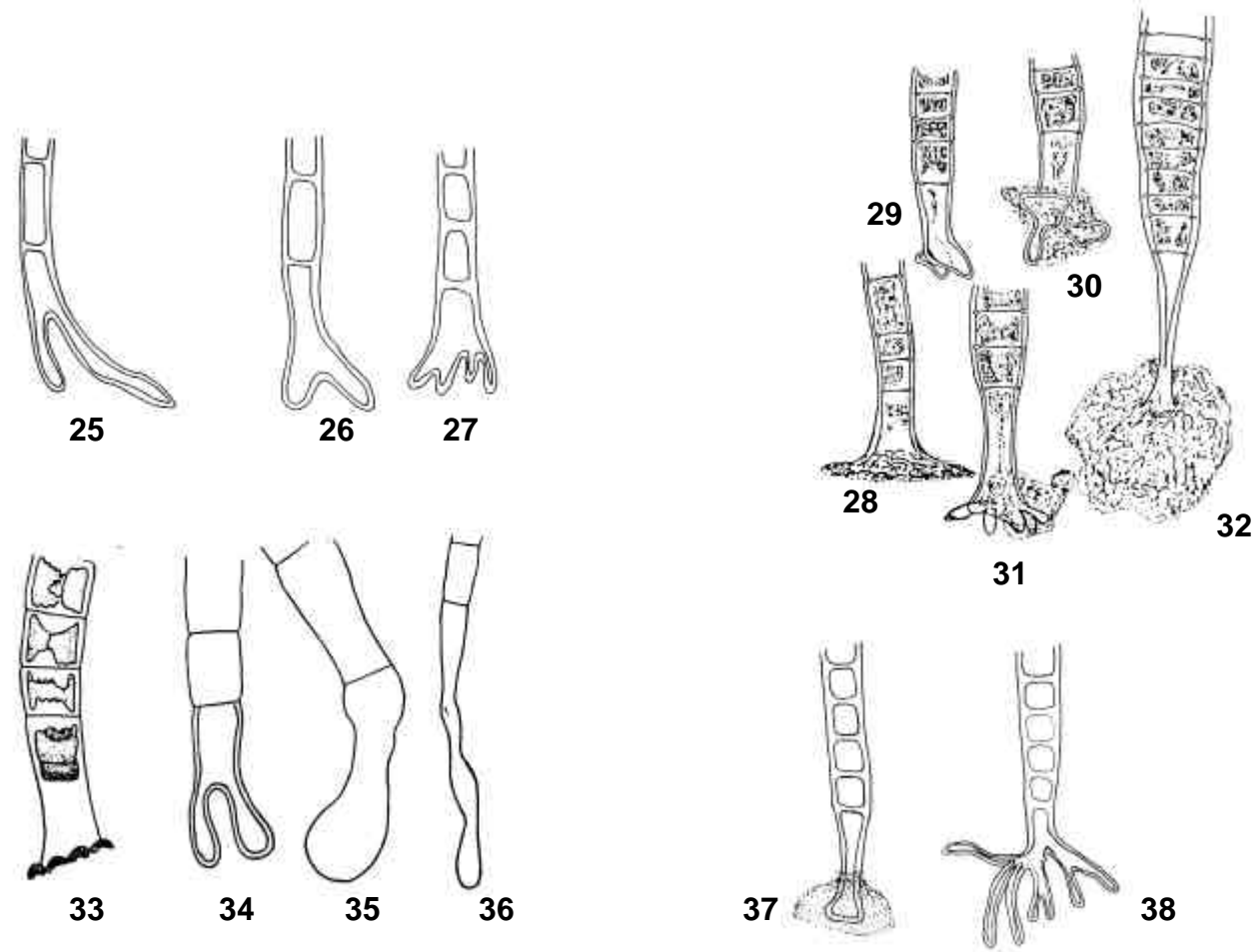
DESCRIÇÃO	LOCALIDADE	FILAMENTO						SISTEMA BASAL	CLOROPLASTO	ÁPICE
		REGIÃO MULTISSERIADA			REGIÃO UNISSERIADA					
		DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR	DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR			
WATSON & TILDEN, 1930	Minnesota, EUA	17-150	-	-	20-25	12-30	12-45	formato de "bulbo"	laminar ou irregular e parietal	truncado e acuminado
PRASAD & SRIVASTAVA, 1963	Utar Pradesh, Índia	39	-	-	-	14-20	7-14	ramificado ou lobado	parietal	arredondado
PATEL, 1967	Gujarat, Índia	64	15-18	11-15	-	13-56,5	13-24,5	discos de fixação, rizóide e lobado	parietal	arredondado
RINO & SANTOS, 1968	Tentugal, Portugal	35-45	10-25	-	-	-	-	disco de fixação	laminar	arredondada
SARMA & CHAUDHARY, 1975	Uttaranchal & Utar Pradesh, Índia	25-156,25	-	-	13,5-50	-	-	lobado claviforme ramificado	parietal	arredondada
DIAS, 1985	Rio de Janeiro, Brasil	90	12,5-20,5	-	20-25	-	-	-	laminar ou irregular e parietal	-
DIAS, 1989	Mato Grosso, Brasil	-	-	-	-	25-48	13-18	-	faixa ou irregular e parietal	-
TIWARI, 1994	Palamau, Índia	-	6,7-16,8(-52,8)	3,3-16,8	-	11,4	4,9-10,1	rizóides	parietal	arredondada
NECCHI et al, 1997	São Paulo, Brasil	225,5	7,5-40	5-25	-	12,5-57,5	6-50	discos ou rizóides	-	acuminado
DIAS & BICUDO, 2001	Rio de Janeiro, Brasil	52-68	-	-	30-42	-	-	disco de fixação	laminar ou irregular e parietal	-
Presente trabalho	São Paulo, Mato Grosso e Minas Gerais, Brasil	49,2-144,5	10,7-22,5	10-19,4	-	25,7-64,7	14,9-30,6	a, c, l, r*	laminar e parietal	truncado ou arredondado

*a = apressório, c = claviforme, l = lobado, r = rizóide.

Tabela 8 – Características morfológicas encontradas em outras espécies de *Schizomeris*.

DESCRIÇÃO	LOCALIDADE	FILAMENTO						SISTEMA BASAL	CLOROPLASTO	ÁPICE
		REGIÃO MULTISSERIADA			REGIÃO UNISSERIADA					
		DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR	DIÂMETRO	DIÂMETRO CELULAR	COMPRIMENTO CELULAR			
<i>S. indicum</i> (GHOSE, 1920) FRITSCH & RICH, 1924	Lahore, India	40 ^a	16–22	10–18	10	b	b	apressório mucilaginoso	faixa e parietal	acuminado
<i>S. irregularis</i> FRITSCH & RICH, 1924	África do Sul	-	-	-	-	-	-	formato de "bulbo" (claviforme)	-	-

a. alcançando enquanto produzia zoósporos. b. "células mais longas que largas" (GHOSE, 1920).



Figuras 25–38. Sistemas basais em *S. leibleinii*: 25-27. lobado ou ramificado (modificados de PRASAD & SRIVASTAVA, 1963); 28, 32. discos (apressório), 29. lobado, 30, 31. rizóides curtos (PATEL, 1967); 33. rizóide, 34. rizóide dicotômico, 35, 36. rizóides com a base dilatada (claviforme) (YADAVA & PANDEY, 1980); 37. apressório, 38. rizóide (original).

Cariologia

Os cromossomos observados nas células dos filamentos de *Schizomeris leibleinii* mostraram-se como pequenos bastões, às vezes lembrando pontos, concordando com as observações de PRASAD & SRIVASTAVA (1963), CHOWDARY (1967a), PATEL (1967) e SARMA & CHAUDHARY (1975). Talvez os cromossomos que se mostraram como pontos sejam estas estruturas com forma de bastões vistos frontalmente. A presença de cromossomos mais longos que os demais e curvos (de formato em V) foi confirmada, assim como SARMA & CHAUDHARY (1975) encontraram em suas análises. Apesar de não ter sido possível efetuar medidas ou análises mais precisas quanto à forma dos cromossomos, segundo SARMA & CHAUDHARY (1975) a curvatura dos cromossomos (formato de V) sugere que os mesmos sejam metacêntricos.

A quantificação cromossômica das amostras avaliadas resultou em um número de cromossomos igual a 12 ($n = 12$), diferindo consideravelmente de todos os autores que efetuaram análises cariológicas em *S. leibleinii* (Tabela 9). PRASAD & SRIVASTAVA (1963) encontraram um $n = 28$ cromossomos para os espécimes coletados nas imediações de Lucknow (Utar Pradesh) na Índia. CHOWDARY (1967a) encontrou nas amostras coletadas em Varanasi (Utar Pradesh), também na Índia, um $n = 15$ cromossomos, sugerindo que, mediante a investigação de PRASAD & SRIVASTAVA (1963) e seus dados quanto ao número de cromossomos, haveria diversas raças citológicas de *S. leibleinii* nas localidades, já que Lucknow encontra-se a 300 km de Varanasi. PATEL (1967), verificou em espécimes provenientes de Vallabh Vidyanagar (Gujarat), na Índia, um $n = 30$ cromossomos nas células desta mesma espécie, achando difícil decidir se a diferença quanto ao número de cromossomos encontrados por ele, quando comparado aos valores citados por PRASAD & SRIVASTAVA (1963) e CHOWDARY (1967a), seja devido à poliploidia, raças citológicas ou gerações haplóides ou diplóides dessa alga (alternância de gerações).

Contudo, o número de cromossomos ($n = 14$) determinado por SARMA & CHAUDHARY (1975) diferiu de todas as contagens anteriormente realizadas para *S. leibleinii*, onde $n = 28, 15$ e 30 cromossomos, respectivamente descritos por PRASAD & SRIVASTAVA (1963), CHOWDARY (1967a) e PATEL (1967). Segundo SARMA & CHAUDHARY (1975), parece que a variação no número de cromossomos, particularmente 28 e 30 , descritos para *S. leibleinii* pode ser interpretada como resultado da duplicação das formas contendo 14 e 15 cromossomos. Ainda, de acordo com SARMA & CHAUDHARY (1975), as formas apresentando 15 e 30 cromossomos, bem como 14 e 28 , podem ser interpretadas também como as fases haplóide e diplóide no ciclo de vida dessa alga, como suspeitado por PATEL (1967).

Informações a respeito do ciclo de vida dessa alga são extremamente escassas. KAWASAKI (1937) sugeriu que *S. leibleinii* apresenta alternância de gerações envolvendo gametas biflagelados (haplóides), produzidos por filamentos microscópicos (gametófitos), que se uniriam produzindo filamentos diplóides visíveis a olho nu (esporófitos) e ao atingirem a maturidade, produziram macrozoósporos quadriflagelados (haplóides) que reiniciariam o ciclo.

Diferenças quanto ao número de cromossomos entre táxons aparentados é comum entre as plantas. O número de cromossomos no conjunto básico, bem como os números de conjuntos básicos de cromossomos nos genomas são variáveis (DE WET, 1971) caracterizando assim, aneuploidias ou poliploidias (FUTUYMA, 1992). Em algas, estas diferenças também ocorrem, como, por exemplo, em *Stigeoclonium variabile* (Nägeli) Islam cujo número de cromossomos encontrado por ABBAS & GODWARD (1965) foi $n = 16$, enquanto CHOWDARY (1967b) encontrou $n = 6$ cromossomos para o mesmo táxon, sugerindo que as amostras analisadas sejam de espécies diferentes devido à variabilidade exibida por *S. variabile* na natureza ou podem ser raças citológicas distintas da mesma espécie. SARMA & JAYARAMAN (1980), analisando cariologicamente várias espécies de *Stigeoclonium* e *Chaetophora*, constataram que o número de cromossomos descritos para diversas espécies de *Stigeoclonium* apresentava uma variação

de 5 a 20 cromossomos e devido a séries ininterruptas nas contagens, começando com $n = 5$, seria possível que a aneuploidia tenha tido um papel significativo na evolução das espécies de *Stigeoclonium*. Ainda de acordo com SARMA & JAYARAMAN (1980), *Chaetophora elegans*, outro representante da ordem Chaetophorales, apresentou dois valores quanto à contagem de cromossomos ($n = 7$ e $n = 9$), diferindo também de outros autores que citaram para esta mesma espécie um $n = 12$ (ABBAS & GODWARD, 1965) e $n = 8$ (SINHA & DAS, 1965), sugerindo assim, que os números de cromossomos descritos por eles possam ter se originado a partir de um $n = 8$ cromossomos que não tenha sofrido disjunção após a metáfase. As diferenças quanto aos números de cromossomos encontrados em *Chaetophora elegans* e comparados com outros autores podem ser decorrentes da presença de raças cromossômicas na presente espécie (SARMA & JAYARAMAN, 1980).

Sob a luz dessas informações, nossos estudos sugerem que *Schizomeris leibleinii* pode apresentar diferentes raças citológicas, mas, no entanto, não é possível descartar a hipótese de que a espécie demonstre alternância de gerações quando comparado a estudos anteriores. Sendo assim, recomenda-se que novos estudos envolvendo a citologia de *S. leibleinii* sejam realizados em amostras procedentes de várias localidades e/ou épocas do ano, para fins de comparação quanto ao número de cromossomos, e que se efetuem também experimentos de cultura desta espécie para o conhecimento do seu histórico de vida.

Zoosporogênese

As descrições quanto à forma e liberação dos zoósporos produzidos não diferiram das observações feitas por outros autores como KAWASAKI (1937), PRASAD & SRIVASTAVA (1963), CHOWDARY (1967a), PATEL (1967), SARMA & CHAUDHARY (1975) e YADAVA & PANDEY (1980), considerando-se como sinônimos os termos usados para descrevê-los quanto à forma. Quanto ao tamanho, as estruturas observadas encontram-se dentro dos

valores métricos descritos por outros autores, como 9,9-11,2 μm diâmetro e 9,9-12,2 μm comprimento (PRASAD & SRIVASTAVA, 1963), 11-15 μm diâmetro e 14-24 μm comprimento (PATEL, 1967), 8,5-22,8 μm e 8,5-28,6 μm comprimento (SARMA & CHAUDHARY, 1975).

As análises relacionadas aos zoósporos que foram efetuadas por outros autores (Tabela 9), mostram que em *S. leibleinii* a ocorrência destas células dotadas de 4 flagelos é freqüente. Apesar da dificuldade de visualização, devido aos movimentos dos zoósporos, apenas células apresentando 4 flagelos foram encontradas, diferindo de PRASAD & SRIVASTAVA (1963), que além de zoósporos quadriflagelados, observaram nestas células 2, 3, 5, 6 e 8 flagelos. Assim como descrito por CHOWDARY (1967a) e PRASAD & SRIVASTAVA (1963), os zoósporos, após um período de movimentação, fixaram-se, tornaram-se arredondados e finalmente alongaram-se, constituindo um filamento.

A presença de esporos de paredes espessadas (cistos/aplanósporos) não foi constatada como citado por PATEL (1967) e YADAVA & PANDEY (1980), que os observaram, respectivamente, por duas vezes e ocasionalmente em material de cultura. Segundo PATEL (1967), estes aplanósporos inicialmente apresentam paredes finas que, mais tarde, tornam-se espessadas com a mudança de coloração desta estrutura para um tom marrom-amarelado. Tais estruturas podem permanecer dormentes por 6 meses no mesmo meio de cultura em uma câmara de temperatura, mas se estes aplanósporos forem transferidos para um novo meio líquido ou sólido, germinam imediatamente (YADAVA & PANDEY, 1980).

A zoosporogênese analisada nestes espécimes do gênero *Schizomeris* concordam com todas as observações feitas até o momento para a alga *S. leibleinii*.

Tabela 9 – Características cariológicas e zoósporos em *Schizomeris leibleinii*.

DESCRIÇÃO	LOCALIDADE	CROMOSSOMOS		ZOÓSPOROS	
		NO.	CARACTERÍSTICA	FORMA	NO. FLAGELOS
KAWASAKI, 1937	Japão	-	-	elíptico ou globular	4
PRASAD & SRIVASTAVA, 1963	Utar Pradesh, Índia	n = 28	pontos ou bastões	alongados	2,3,4,5,6,8
CHOWDARY, 1967a	Utar Pradesh, Índia	n = 15	pontos	arredondados ou alongados	4
PATEL, 1967	Gujarat, India	n = 30	pontos ou bastões*	oblongos ou elipsóides	provavelmente 2 ou 4
SARMA & CHAUDHARY, 1975	Uttaranchal & Utar Pradesh, Índia	n = 14	pontos e bastões	ovóide	4
YADAVA & PANDEY, 1980	Utar Pradesh, Índia	-	-	ovóide, oblongos ou alongados	4
Presente trabalho	São Paulo, Brasil	n = 12	bastões*	esféricos ou ovalados	4

*alguns bastões curvados.

BIBLIOGRAFIA

ABBAS, A.; GODWARD, M. B. E. Chromosome numbers in some members of the Chaetophorales. **Labdev J. Sci. Tech.**, Kanpur (India), v. 3, n. 4, p. 269, 1965.

BIRKBECK, T. E.; STEWART, K. D.; MATTOX, K. R. The cytology and classification of *Schizomeris leibleinii* (Chlorophyceae). II. The structure of quadriflagellate zoospores. **Phycologia**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 71-79, 1974.

BOURRELY, P. **Les algues D'eau Douce**. 1. Les Algues Vertes. Paris: N. Boubée & Cie, 1966.

BRANCO, C. C. Z. & NECCHI, O. Jr. Microhabitat and morphometric variation of two Chaetophoracean (Chaetophorales, Chlorophyta) species in tropical streams of southeastern Brazil. **Phycol. Res.**, Lawrence, v. 46, p. 169-174, 1998.

BRANCO, L. H. Z.; PEREIRA, J. L. Evaluation of seasonal dynamics and bioindication potential of macroalgal communities in polluted tropical stream. **Arch. Hydrobiol.**, Stuttgart, v. 155, n. 1, p. 147-161, 2002.

CAMPBELL, E. O.; SARAFIS, V. *Schizomeris* - a growth form of *Stigeoclonium tenue* (Chlorophyta: Chaetophoraceae). **J. Phycol.**, Lawrence, v. 8, p. 276-282, 1972.

CHOWDARY, Y. B. K. A cytological study of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Rev. Algol.**, Paris, v. 8, p. 302-306, 1967a.

CHOWDARY, Y. B. K. The chromosome numbers of some species of the genus *Stigeoclonium* Kuetz. **Cytology**, New York, v. 32, p. 174-179, 1967b.

CIENKOWSKI, L. Zur morphologie der Ulotricheen. **Bull. Acad. Imp. Sci.**, St. Petersburg, v. 21, p. 529-557, 1876.

COX, E. R. & BOLD, H. C. Taxonomic investigations of the genus *Stigeoclonium*. **Phycol. Stud.**, v. 7, p. 7-167, 1966.

DE WET, J. M. J. Polyploidy and evolution in plants. **Taxon**, Utrecht, v. 20, n. 1, p. 29-35, 1971.

DIAS, I. C. A. Chlorophyta filamentosas da Lagoa de Juturnaíba, Araruama, Rio de Janeiro. **Revta. brasil. Bot.**, São Paulo, v. 8, p. 93-99, 1985.

DIAS, I. C. A. Chlorophyta filamentosas do município de Cáceres e arredores, Mato Grosso, Brasil: uma contribuição ao seu conhecimento. **Acta bot. brasil.**, São Paulo, v. 3, n. 2, 1989.

DIAS, I. C. A.; BICUDO, C. E. M. Chaetophoraceae, Microsporaceae, Schizomeridaceae, and Ulotrichaceae from Biological Reserve of Poço das Antas, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Algol. Stud.**, Stuttgart, v. 102, p. 73-91, 2001.

FOTT, B. **Algenkunde**. Jena: Fischer, 1959.

FRANCKE, J. A. Morphological plasticity and ecological range in three *Stigeoclonium* species (Chlorophyceae, Chaetophorales). **Br. phycol. J.**, London, v.17, p. 117-133, 1982.

FRANCKE, J. A.; TEN CATE, H. J. Ecotypic differentiation in response to nutritional factors in the algal genus *Stigeoclonium* Kütz. (Chlorophyceae). **Br. phycol. J.**, London, v. 15, p. 343-355, 1980.

FRITSCH, F. E. **Structure and reproduction of algae**. London: Cambridge University Press, v.1, 1935.

FRITSCH, F. E.; RICH, F. Contributions to our knowledge of freshwater algae of Africa. 4. Freshwater and subaerial algae from Natal. **Trans. Roy. Soc. S. Afr.**, Cape Town, v. 11, p. 297-398, 1924.

FUTUYMA, D. **Biologia evolutiva**. 2. ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/ CNPq, 1992.

GHOSE, S. L. A new species of *Uronema* from India. **Ann. Bot.**, London, v. 34, p. 95-98, 1920.

GUERRA, M. Hematoxylin: a simple, multiple use die for chromosome analysis. **Genet. Mol. Biol.**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 1, p. 77-80, 1999.

GUPTA, A. B. Some observations on *Schizomeris leibleinii* Kützing. **Sc. & Cult.**, Calcutá, v. 19, p. 153-155, 1953.

HARDING, J. P.; WHITTON, B. A. Influence to the nutrient deficiency on hair formation in *Stigeoclonium*. **Br. phycol. J.**, London, v. 13, p. 65-68, 1978.

HOLMGREN, P. K.; HOLMGREN, N. H.; BARNETT, L. C. **Index Herbariorum**, part I, The herbaria of the World, 8th ed. New York: New York Botanical Garden, 1990.

JOHANSSON, C. Attached algal vegetation in running water of Jämtland, Sweden. **Acta Phytogeogr. Suec.**, Uppsala, v. 74, p. 1-84, 1982.

JOHNSTONE, I. M. Phenotypic plasticity in *Draparnaldia* (Chlorophyta: Chaetophoraceae). I. Effects of the chemical environment. **J. Phycol.**, Lawrence, v. 14, p. 302-308, 1978.

KAPRAUN, D. F.; MARTIN, D. J. Karyological of three species of *Codium* (Codiales, Chlorophyta) from coastal North Carolina, **Phycologia**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 228-234, 1987.

KAWASAKI, Y. On the life-history of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Bot. Mag.**, Tokyo, v. 51, p. 25-30, 1937.

KÜTZING, F. T. Ueber die systematische Eintheilung der Algen. **Linnaea**, Berlim, v. 17, p. 75-107, 1843a

KÜTZING, F. T. **Phycologia Generalis, oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange**. Leipzig, 1843b.

KÜTZING, F. T. **Phycologia Germanica**. Nordhausen, 1845.

MATTOX, K. R.; STEWART, K. D.; FLOYD, G. L. The cytology and classification of *Schizomeris leibleinii* (Chlorophyceae). I. The vegetative thallus.

Phycologia, Oxford, v. 13, n. 1, p. 63-69, 1974.

McBRIDE, G. E. A classroom demonstration of zoospore production in the green alga *Schizomeris leibleinii* Kuetz. **J. Phycol.**, Lawrence, v. 4, p. 251-252, 1968.

NECCHI, O. Jr. Microhabitat and plant structure of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) populations in four streams of São Paulo State, southeastern Brazil. **Phycol. Res.**, Lawrence, v. 45, p. 39-45, 1997.

NECCHI, O. Jr.; PASCOALOTO, D. Morphometry of *Compsopogon coeruleus* (Compsopogonaceae, Rhodophyta) populations in a tropical river basin of southeastern Brazil. **Algol. Stud.**, Stuttgart, v. 76, p. 61-73, 1995.

NECCHI, O. Jr.; GÓES, R. M.; DIP, M. R. Phenology of *Compsopogon coeruleus* (Balbis) Montagne (Compsopogonaceae, Rhodophyta) and evaluation of taxonomic characters of the genus. **Jpn. J. Phycol.**, Tokyo, v. 38, p. 1-10, 1990.

NECCHI, O. Jr.; PASCOALOTO, D.; BRANCO, C. C. Z.; BRANCO, L. H. Z. Stream macroalgal flora of the northwest region of São Paulo State, southeastern Brazil. **Algol. Stud.**, Stuttgart, v. 84, p. 91-112, 1997.

NICHOLS, H. W. Growth media-freshwater. In:_____. **Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements**. Cambridge: Cambridge University Press, 1973. p. 7-24.

PAPENFUSS, G. F. Classification of algae in A Century of Progress in Natural Sciences 1853-1953. **Calif. Acad. Sci. San Francisco**, San Francisco, p. 115-224, 1955.

PATEL, R. J. On morphology and cytology of *Schizomeris leibleinii* Kuetz. from Gujarat. **Phykos**, New Dheli, v. 6, p. 87-90, 1967.

PEREIRA, I. A.; PARRA, O. O. Algas filamentosas dulceacuicolas de Chile I. Algas Bentônicas de Concepción. **Gayana Bot.**, Concepción (Chile), v. 41, n. 3-4, p. 141-200, 1984.

- PRASAD, B. N.; SRIVASTAVA, P. N. Observations on the Morphology, Cytology, and Asexual Reproduction of *Schizomeris leibleinii*. **Phycologia**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 148-156, 1963.
- PRESCOTT, G. W. **Algae of the Western Great Lakes Area**. Dubuque: Wm C. Brown Co., 1962.
- PRESCOTT, G. W. Classification of Western Great Lakes area exclusive of Desmids e Diatoms. **Cranbrook Instit. Sc. Bull.**, Michigan, v. 31, 1951.
- PRESCOTT, G. W. **The Algae: A Review**. Boston: Houghton Mifflin, 1968.
- PRINTZ, H. Chlorophyceen, In: ENGLER-PRANTT'S, "**Pflanzenfamilien**". 2nd. ed, 1927.
- RINO, J. A.; SANTOS, M. F. Subsídios para o conhecimento das algas de Portugal – III. Coimbra, Instituto Botânico da Universidade de Coimbra, p. 19-56, 1968.
- RYAN, B. F.; JOINER, B. L.; RYAN, T. J. Jr. **Minitab handbook**. Boston: Duxbury, 1985.
- SARMA, Y. S. R. K.; CHAUDHARY, B. R. On a new cytological race of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 47, p. 181-191, 1975.
- SARMA, Y. S. R. K.; JAYARAMAN, S. Karyological studies on certain taxa of *Stigeoclonium* and *Chaetophora* (Chaetophorales, Chlorophyceae). **Phycologia**, Oxford, v. 19, n. 4, p. 253-259, 1980.
- SIMONS, J.; van BEEM, A. P.; DE VRIES, P. J. R. Morphology of the prostrate thallus of *Stigeoclonium* (Chlorophyceae, Chaetophorales) and its taxonomic implications. **Phycologia**, Oxford, v. 25, p. 210-220, 1986.
- SINHA, J. P.; DAS, R. N. Cytological study of two species of *Chaetophora* Shrank. **Phykos**, New Dheli, v. 4, p. 74-75, 1965.
- TIWARI, M. G. New record of *Schizomeris leibleinii* (alga) from polluted habitats of south Chotanagpur, Bihar. **J. Ecobiol.**, New Dheli, v. 6, p. 71-72, 1994.

VIEIRA, J. Jr.; NECCHI, O. Jr. Microhabitat and plant structure of Characeae (Chlorophyta) population in streams from São Paulo State, southeastern Brazil. **Cryptogamie Algol.**, Paris, v. 23, n. 1, p. 51-63, 2002.

WATSON, J. B.; TILDEN, J. E. The algal genus *Schizomeris* and the occurrence of *Schizomeris leibleinii* Kützing in Minnesota. **Trans. Am. Microsc. Soc.**, Lawrence, v. 49, p. 160-167, 1930.

WILLE, N. Conjugate und Chlorophyceae. In: ENGLER, A.; PRANTL, K. **Die Näturlichen Pflanzenfamilien** Teil, v. 1, 1890. p. 1-175.

WITTMANN, W. Aceto-iron-haematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. **Stain Technol.**, Baltimore, v. 40, n. 3, p. 161-164, 1965.

WOOD, H. C. The manner in which *Schizomeris leibleinii* Kütz. Produces its zoospores. **Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia**, Philadelphia, p. 11-12, 1868.

YADAVA, R. N.; PANDEY, D. C. Certain cultural observations on *Schizomeris leibleinii* Kuetz. **Phykos**, New Dheli, v. 19, n. 2, p. 204-209, 1980.

APÊNDICE

Técnica para coloração de cromossomos WITTMANN (1965)

Solução estoque:

- 4 g de hematoxilina
- 1 g de sulfato férrico amoniacal (alúmen férrico) ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)
- 100 mL de ácido acético glacial a 45% (45 mL de ácido acético glacial e 55 mL de água destilada)

Dissolver a hematoxilina e o alúmen férrico na solução de ácido acético glacial 45% e deixar por cerca de 7 dias em um frasco bem fechado para ocorrer a “maturação” da solução. Após o período de maturação, filtrar a mesma com papel filtro e manter em um frasco escuro sob refrigeração.

Solução de trabalho (corante):

- 5 mL da solução estoque
- 2 g de hidrato de cloral

Esta solução está pronta para uso quando o hidrato de cloral dissolve-se por completo, ou seja, ficando por cerca de duas semanas na solução estoque. O aquecimento não deve ser usado para acelerar a dissolução do hidrato, pois o mesmo perde suas propriedades químicas.

Coloração:

Alguns filamentos do material previamente fixado em solução de Carnoy foram postos sobre lâmina. Uma gota do corante foi colocada sobre o material e em seguida coberta com lamínula. A lâmina foi então aquecida até ocorrer uma leve mudança de cor, e em seguida a mesma foi comprimida entre folhas de papel filtro para que ocorresse o esmagamento (“squashing”) do material a ser analisado.

Modificação da técnica de WITTMANN (1965)

Baseando-se em testes prévios em que foram avaliadas as soluções de trabalho integrais e várias diluições da mesma, a forma que se mostrou mais efetiva foi aquela cuja diluição da solução de trabalho (corante) ocorreu a 10%

em ácido acético glacial 45%, pois evitou que o citoplasma das células ficasse muito corado, impedindo a observação dos cromossomos. A diluição foi feita da seguinte forma: misturou-se 5 mL da solução de trabalho em 45 mL de ácido acético glacial 45%. A partir desta solução diluída executou-se a coloração dos cromossomos como descrito acima.

CAPÍTULO 2

AMPLITUDE ECOLÓGICA DE *Schizomeris leibleinii* (CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA)

INTRODUÇÃO

Ambientes lóticos, bem como todos os ecossistemas aquáticos, freqüentemente estão sujeitos aos mais variados tipos de perturbações. Segundo PAL et al. (1992), o despejo de substâncias orgânicas no ambiente, resultantes de atividades domésticas, agrícolas e industriais, caracteriza a poluição orgânica. A entrada destas substâncias pode inicialmente caracterizar a eutrofização, que contribui para um grande desenvolvimento algal e que, na maioria das vezes, causa transtornos dos mais variados tipos como entupimento de canos, odor e sabor desagradáveis na água, problemas de saúde através da liberação de substâncias nocivas ao homem, além da depreciação visual do corpo d'água (PAL et al., 1992). Inclusive, de acordo com DE VRIES et al. (1985), as descargas de nutrientes, como o fósforo e o nitrogênio, nos canais de água da maioria das áreas usadas para agricultura, provoca o crescimento intenso de macrófitas e algas epifíticas nestes locais.

Análises utilizando-se algas são ferramentas valiosas para monitorar a eutrofização de ambientes aquáticos, podendo ser empregadas na identificação de nutrientes limitantes ao crescimento algal e/ou para quantificar a resposta biológica às mudanças nas concentrações destes nutrientes (MILLER et al., 1974; MALONEY & MILLER, 1975; BIGGS, 1989; McCORMICK & CAIRNS, 1994; NECCHI et al., 1994; KELLY & WHITTON, 1998; BRANCO & PEREIRA, 2002). Na maioria das vezes, essas análises são feitas utilizando-se algas verdes unicelulares ou cianofíceas filamentosas como organismos de teste (KOMÁREK & LHOTSKÝ, 1979).

Algas verdes filamentosas são freqüentemente abundantes em águas rasas e eutrofizadas (HILLEBRAND, 1983; KLAPWIJK et al., 1983; NECCHI et al., 1994; BRANCO & PEREIRA, 2002). Contudo, estudos envolvendo suas respostas biológicas às alterações das concentrações de nutrientes são escassos. FRANCKE & TEN CATE (1980), com a finalidade de explicar a distribuição de *Stigeoclonium* Kützing de acordo com os níveis de nutrientes em seus habitats, avaliaram as respostas do crescimento de várias linhagens deste organismo aumentando os níveis de fosfato, amônio e clorídros em

cultura. DE VRIES et al. (1983) testaram, como organismos de bioensaio, onze linhagens do gênero *Stigeoclonium* para identificar as concentrações de nitrogênio e fósforo limitantes ao crescimento, em vários tipos de águas. DE VRIES et al. (1985) analisaram os efeitos das concentrações combinadas de nitrato e fosfato na produtividade de várias linhagens de *Stigeoclonium*, em meio sintético e em água do próprio ambiente, observando que o aumento da produtividade algal após a adição de um nutriente depende da concentração do outro. Ainda DE VRIES & HOTTING (1985) testaram *Stigeoclonium tenue* (Agardh) Kützing como organismo de bioensaio em águas recebendo efluentes de duas estações de tratamento de esgoto, contendo taxas variadas de fosfato ($\text{PO}_4\text{-P}$) e amônio ($\text{NH}_4\text{-N}$), sugerindo que a presença das águas residuais inibia o crescimento desta alga devido, possivelmente, a NH_4 ou metais. Espécies do gênero *Stigeoclonium* são escolhidas como organismos teste devido à sua comum ocorrência por todo o ano no perifíton de águas rasas e, geralmente, eutrofizadas (FRANCKE & TEN CATE, 1980; DE VRIES et al., 1983; DE VRIES & HOTTING, 1985; DE VRIES et al., 1985).

A alga *Schizomeris leibleinii* Kützing é um organismo comum em ambientes aquáticos eutrofizados ou impactados por poluição orgânica (CHOWDARY, 1967; CAMPBELL & SARAFIS, 1972; SARMA & CHAUDHARY, 1975; YADAVA & PANDEY, 1980; DIAS, 1985; NECCHI et al., 1994; ENTWISLE et al., 1997; BRANCO & PEREIRA, 2002) ou industrial (TIWARI, 1994) no mundo inteiro. Alguns trabalhos sugerem que *S. leibleinii* é um bom indicador de poluição, merecendo atenção especial, pois se desenvolve muito bem em ambientes fortemente eutrofizados ou organicamente poluídos (NECCHI et al., 1994; BRANCO & PEREIRA, 2002). Dessa maneira, o conhecimento de sua biologia e de sua capacidade de tolerância às condições ambientais torna-se importante para projetos relacionados ao biomonitoramento ou indicação biológica dos níveis de nutrientes orgânicos.

O presente trabalho tem por objetivos estudar o desenvolvimento em cultura de *S. leibleinii* através da variação das concentrações dos nutrientes fósforo e nitrogênio, avaliando a amplitude ecológica da espécie e sob estes fatores avaliar o seu potencial de uso como bioindicador de poluição orgânica.

MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes utilizados para desenvolver os experimentos de avaliação da amplitude ecológica de *Schizomeris leibleinii* foram coletados no Ribeirão Claro (20°46'33"S e 49°11'49"W) no município de Guapiaçu, estado de São Paulo. Amostras do crescimento algal foram coletadas e acondicionadas em frascos de vidro com água do próprio local, e levadas ao laboratório para limpeza e obtenção de uma cultura unialgal (não axênica) desta espécie.

Para a obtenção de uma cultura unialgal, o material mantido vivo nos frascos foi lavado várias vezes em tubos de ensaio com água deionizada esterilizada para a retirada das impurezas. Em seguida, 3 ou 4 filamentos foram transferidos para erlenmeyers de 100 mL contendo meio de cultura de Bold em estado líquido esterilizado (NICHOLS, 1973; YADAVA & PANDEY, 1980).

Os erlenmeyers inoculados com *Schizomeris* foram mantidos em câmaras de cultivo com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro (modificado de SARMA & CHAUDHARY, 1975), com iluminação artificial proveniente de lâmpadas fluorescentes ($100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e dois valores de temperatura 15 e 20°C (modificado de YADAVA & PANDEY, 1980). A repicagem do material, para a obtenção da cultura unialgal, foi efetuada a cada 15 dias observando-se o desenvolvimento e a contaminação por outras algas (p.ex. diatomáceas e clorococáceas). As amostras que demonstravam sinais de contaminação eram descartadas, enquanto as não contaminadas foram repicadas, seguindo-se a metodologia para o inóculo inicial.

Testes preliminares para os experimentos envolvendo a variação de nutrientes foram realizados antes, visando à determinação do período de tempo adequado ao melhor desenvolvimento das culturas de *S. leibleinii*. Os testes preliminares consistiram no inóculo de 30 frascos de vidro (erlenmeyers) contendo 75 mL de meio básico de Bold líquido, com 5 mg ($\pm 0,1$ mg) de biomassa algal proveniente de isolados. Os mesmos foram mantidos em câmara de cultivo sob intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

($\pm 2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro (modificado de SARMA & CHAUDHARY, 1975) e temperatura de 20°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por um período de 60 dias.

Após a obtenção de cultivos unialgais, foram iniciados os experimentos de variação de fósforo e nitrogênio. Tomando-se o meio básico de Bold (NICHOLS, 1973) como solução padrão, as concentrações de fósforo e nitrogênio do meio foram modificadas isoladamente (apenas fósforo ou nitrogênio) ou em conjunto (os dois nutrientes), dez vezes superior e dez vezes inferior à concentração padrão destes nutrientes no meio original (Bold). Estas modificações consistiram no acréscimo ou redução das concentrações de fósforo (na forma de K_2HPO_4 e KH_2PO_4) e/ou nitrogênio (na forma de NaNO_3). As variações do nutriente fósforo foram conseguidas modificando-se as concentrações das soluções estoque das substâncias K_2HPO_4 e KH_2PO_4 da seguinte maneira: para a alta concentração (MBB+P), preparou-se uma solução estoque concentrada com 15g de K_2HPO_4 e 35g KH_2PO_4 , enquanto o meio de baixa concentração (MBB-P) foi constituído de 0,15g de K_2HPO_4 e 0,35g KH_2PO_4 . Em relação ao nutriente nitrogênio, as variações foram conseguidas modificando-se as concentrações das soluções estoque da substância NaNO_3 da seguinte forma: para a alta concentração (MBB+N), preparou-se uma solução estoque concentrada com 50g de NaNO_3 , enquanto que o meio de baixa concentração (MBB-N) foi constituído de 0,5g de NaNO_3 . As designações dos meios usados nos experimentos são as seguintes: MBB (meio básico Bold), MBB+P (meio com mais fósforo), MBB-P (meio com menos fósforo), MBB+N (meio com mais nitrogênio), MBB-N (meio com menos nitrogênio); e para os nutrientes modificados em conjunto: MBB+N/P e MBB-N/P. As concentrações dos nutrientes fósforo e nitrogênio nos meios utilizados nos experimentos encontram-se expressos na Tabela 1.

Amostras de *S. leibleinii* utilizadas nos experimentos envolvendo os nutrientes fósforo, nitrogênio e a interação de ambos foram mantidas em meio de cultura de Bold desprovidos destes nutrientes por um período de cinco dias para garantir que as mesmas esgotassem suas reservas internas e absorvessem os nutrientes em questão diretamente do meio de cultura (DE

VRIES & HOTTING, 1985). Para cada uma das concentrações mencionadas anteriormente, utilizaram-se 25 réplicas que cresceram por um período total de 50 dias de experimento. Em cada frasco, foi inoculada uma biomassa inicial de 5 mg da alga em 75 mL das variações do meio de cultura de Bold citadas. Após o inóculo, os frascos foram levados para câmaras de cultivo e ficaram expostos a um valor médio de luminosidade de $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ($\pm 2\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) por um período total de 50 dias, sob fotoperíodo de 12h claro/12h escuro (modificado de SARMA & CHAUDHARY, 1975) e temperatura de 20°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$).

A cada 10 dias, 5 frascos de cada tratamento foram retirados das culturas e submetidos à raspagem com bastões de polietileno e espátulas de silicone para o desprendimento dos filamentos que cresciam sobre o fundo e paredes laterais do mesmo. Em seguida o meio de cultura com o material em suspensão foi filtrado utilizando-se uma bomba de vácuo e filtro de fibra de vidro SCHLEICHER & SCHUELL GF 52-C com poros de $0,47 \mu\text{m}$. Após a filtragem, os filtros foram dobrados em direção à superfície em que ficaram retidos os filamentos algais e acondicionados em filme plástico com papel alumínio, sendo posteriormente armazenados no freezer de um refrigerador onde permaneceram por um período inferior a 30 dias.

Tabela 1 – Concentrações de fósforo e nitrogênio em variações do Meio Básico de Bold.

MEIOS DE CULTURA	CONCENTRAÇÕES	
	PO_4	NO_3
<i>MBB</i>	159,4 mg.L ⁻¹	182,3 mg.L ⁻¹
<i>MBB+P</i>	1594 mg.L ⁻¹	182,3 mg.L ⁻¹
<i>MBB-P</i>	15,94 mg.L ⁻¹	182,3 mg.L ⁻¹
<i>MBB+N</i>	159,4 mg.L ⁻¹	1825 mg.L ⁻¹
<i>MBB-N</i>	159,4 mg.L ⁻¹	18,2 mg.L ⁻¹
<i>MBB+N/P</i>	1594 mg.L ⁻¹	1825 mg.L ⁻¹
<i>MBB-N/P</i>	15,94 mg.L ⁻¹	18,2 mg.L ⁻¹

A partir do material recolhido das culturas, a biomassa de cada amostra foi avaliada com base na quantificação de clorofila *a* (APHA, 1995; WETZEL &

LIKENS, 1990 e WETZEL & WESTLAKE, 1971). A extração foi conduzida em ambiente sem luz para evitar a degradação da clorofila e consistiu, primeiramente, na trituração e maceração do filtro contendo os filamentos algais em um cadinho, com 5 mL de solução aquosa de acetona 90%. O filtro dissolveu-se formando uma massa e foi triturado vigorosamente. A essa massa foram acrescentados mais 3 mL da solução de acetona e continuada a maceração. O material foi transferido para o tubo de centrífuga e mais 2 mL de solução de acetona foi usado para enxaguar o cadinho evitando a possível perda de material. A solução usada no enxágüe foi colocada no tubo de centrífuga, completando o volume para 10 mL. Os tubos foram centrifugados por 5 minutos a 2500 rpm. Quando filtros de fibra de vidro são usados, as fibras podem aderir-se às paredes dos tubos. Quando isso ocorreu, o tubo foi removido e gentilmente agitado, deslocando assim qualquer fibra aderida às paredes sendo em seguida centrifugado por mais 2 minutos.

O extrato obtido após a centrifugação (cerca de 3 mL) foi transferido para uma cubeta de 1 cm e submetido à determinação espectrofotométrica, que consistiu na leitura da Densidade Óptica a 750 nm e 665 nm, em um espectrofotômetro com largura de banda estreita (0,5-2,0 nm) devido ao pico de absorção relativamente estreito da clorofila. Após a leitura, o extrato foi acidificado na própria cubeta, adicionando-se uma gota de solução de ácido clorídrico (cerca de 0,01 mL de HCl 1 N), homogeneizado com um pequeno bastão plástico e o pH medido com papel indicador. Nova leitura foi efetuada a 750 e 665 nm 6 minutos após a acidificação para permitir a degradação de toda clorofila e sua conversão em feofitina (WETZEL & LIKENS, 1990).

Uma cubeta contendo acetona alcalinizada 90% foi usada como branco (calibragem) antes de todas as leituras, tanto em 665 quanto em 750 nm.

Os valores obtidos após a leitura foram submetidos à fórmula abaixo e os resultados foram expressos em μg de clorofila \underline{a} por amostra ($\mu\text{g l}^{-1}$ amostra).

$$\mu\text{g cl } \underline{a} \text{ por amostra} = 11,9 [2,43 (DO_b - DO_a)] (v/L)$$

Onde:

DO_b = Densidade Óptica a 665 nm em acetona corrigida para turbidez a

750 nm antes da acidificação (DO665 nm - DO750nm).

DO_a = Densidade Óptica a 665 nm em acetona corrigida para turbidez a 750 nm após a acidificação (DO665 nm - DO750 nm).

v = volume (mL) do solvente usado para extrair a amostra.

L = comprimento do caminho óptico (cm) da cubeta.

11,9 = coeficiente de absorbância para clorofila a a 665 μ m.

2,43 = proporção que expressa a correção por acidificação.

Para a confirmação de que as amostras de *S. leibleinii* responderam ou não aos tratamentos a que foram submetidas, os dados referentes à biomassa (clorofila a) foram analisados estatisticamente com os testes de Análise de Variância (ANOVA - uma via) e o Teste t de Tukey, usando-se o software MINITAB versão 10.1 (RYAN et al., 1985).

RESULTADOS

As respostas e os efeitos da variação dos nutrientes fósforo e nitrogênio no crescimento de *S. leibleinii* em meio sintético de Bold, estão expressos nas Tabelas 2–5 e nas Figuras 1–4.

No experimento referente à variação na concentração de fósforo (PO_4) e nitrogênio (NO_3) isoladamente (Figura 1-2), a produtividade máxima ocorreu sempre no 40º dia, com exceção apenas do material cultivado em meio MBB-N, cuja produtividade máxima ocorreu no 20º dia de cultivo. No entanto, nos experimentos envolvendo a variação das combinações de nitrogênio e fósforo (Figura 3) ocorreu uma inversão quanto à produtividade máxima e mínima. Em MBB+N/P, a produtividade máxima ocorreu no 50º dia, enquanto em MBB-N/P, neste mesmo período, obteve-se a menor produção de clorofila a.

Os dados do experimento de variação de fósforo quando submetidos à ANOVA, mostraram que no 10º ($F=16,24$; $p<0,00$), 40º ($F=17,68$; $p<0,00$) e 50º ($F=10,06$; $p<0,00$) dias de crescimento houve diferenças significativas entre os tratamentos. O Teste *t* de Tukey demonstrou que no 10º, 40º e 50º dias de crescimento a produção de clorofila a em MBB foi diferente entre o tratamento MBB-P, enquanto MBB-P foi diferente de MBB+P apenas no 10º dia, no nível de significância de 0,05. Nos 40º e 50º dias de crescimento o mesmo teste mostrou que entre o padrão MBB e MBB+P ocorrem diferenças quanto às médias obtidas em relação à produção de clorofila a.

A ANOVA envolvendo os dados do experimento da variação de nitrogênio revelou diferenças significativas no 10º ($F=9,45$; $p<0,00$), 30º ($F=5,11$; $p<0,05$), 40º ($F=29,64$; $p<0,00$) e 50º ($F=60,90$; $p<0,00$). dias de crescimento O Teste *t* de Tukey demonstrou que no 10º, 30º, 40º e 50º dias a produção de clorofila a em meio padrão MBB foi significativamente diferente da produção em meio MBB-N, enquanto que no 30º e 50º dias a diferença ocorreu apenas entre a produção em meio padrão MBB e meio MBB+N. No entanto no 10º, 40º e 50º dias ocorreram diferenças significativas entre o crescimento encontrado em meio MBB-N e meio MBB+N.

Tabela 2 – Valores de clorofila a em μg por amostra (média* \pm ep) expressando o crescimento de *S. leibleinii* por 50 dias em diferentes concentrações de fósforo no meio de cultura.

MEIOS DE CULTURA	DIAS DE CRESCIMENTO				
	10	20	30	40	50
<i>MBB</i>	5,38 \pm 1,04	15,16 \pm 1,84	20,64 \pm 3,50	55,66 \pm 7,22	33,18 \pm 2,14
<i>MBB+P</i>	2,49 \pm 1,03	11,46 \pm 3,47	13,99 \pm 4,48	25,37 \pm 2,21	16,36 \pm 3,35
<i>MBB-P</i>	13,29 \pm 1,91	14,37 \pm 5,20**	8,90 \pm 2,19	21,91 \pm 1,25	19,36 \pm 2,87

*n = 5, ** n = 4.

Tabela 3 – Valores de clorofila a em μg por amostra (média* \pm ep) expressando o crescimento de *S. leibleinii* por 50 dias em diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura.

MEIOS DE CULTURA	DIAS DE CRESCIMENTO				
	10	20	30	40	50
<i>MBB</i>	5,38 \pm 1,04	15,16 \pm 1,84	20,64 \pm 3,50	55,66 \pm 7,22	33,18 \pm 2,14
<i>MBB+N</i>	6,04 \pm 0,43	21,44 \pm 2,13	18,09 \pm 2,04	28,32 \pm 3,76	26,18 \pm 2,28
<i>MBB-N</i>	11,04 \pm 1,33	14,57 \pm 1,83	10,06 \pm 1,20	4,22 \pm 0,91	5,90 \pm 0,35

*n = 5.

Tabela 4 – Valores de clorofila a em μg por amostra (média* \pm ep) expressando o crescimento de *S. leibleinii* por 50 dias em diferentes concentrações de fósforo e nitrogênio em associação no meio de cultura.

MEIOS DE CULTURA	DIAS DE CRESCIMENTO				
	10	20	30	40	50
<i>MBB</i>	5,38 \pm 1,04	15,16 \pm 1,84	20,64 \pm 3,50	55,66 \pm 7,22	33,18 \pm 2,14
<i>MBB+N/P</i>	3,12 \pm 0,36	1,74 \pm 0,22	2,71 \pm 0,47	4,85 \pm 1,22	11,79 \pm 1,65
<i>MBB-N/P</i>	10,75 \pm 1,22	12,49 \pm 2,99	9,65 \pm 2,61	8,44 \pm 1,95	5,84 \pm 1,77

*n = 5.

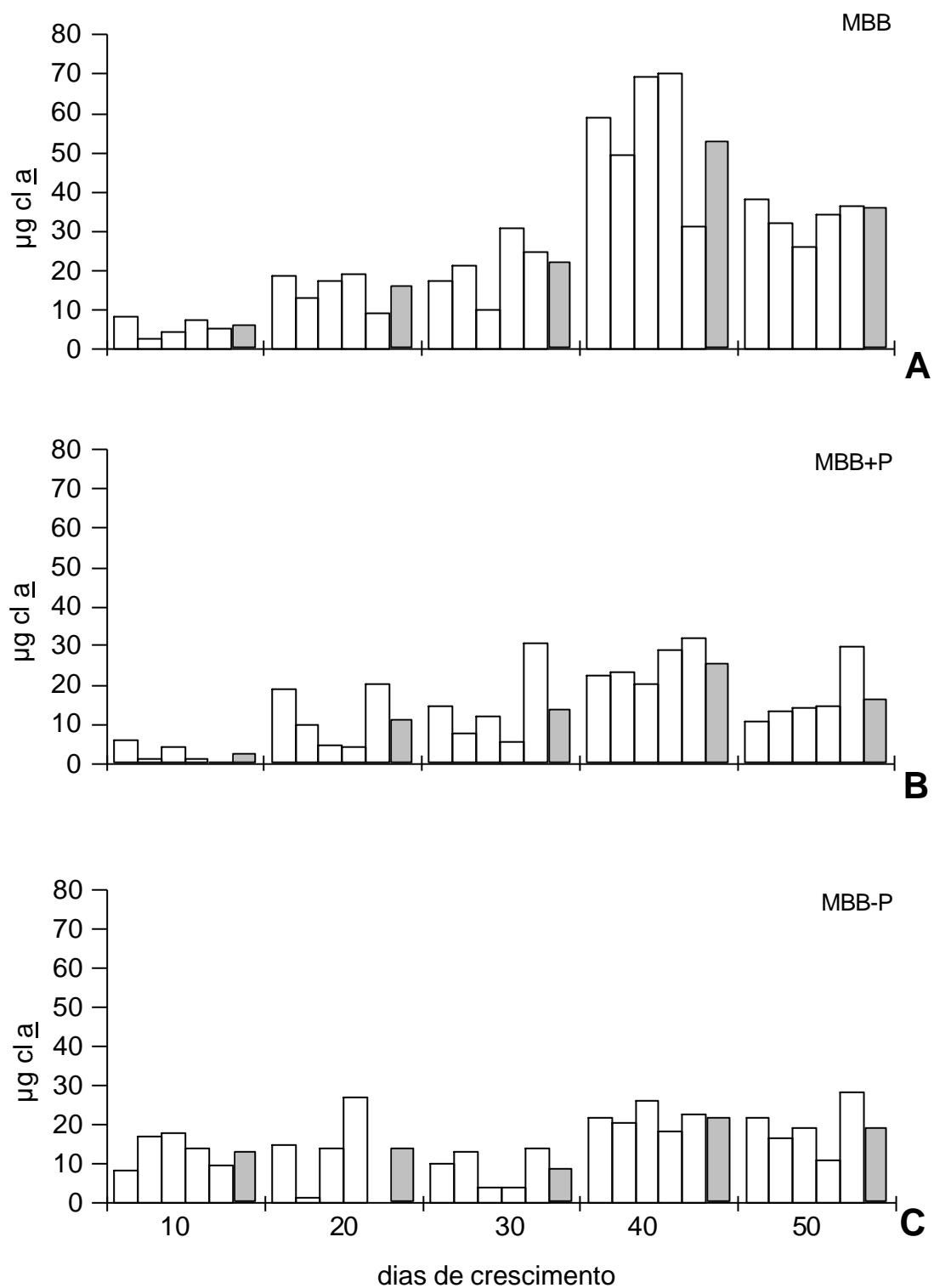


Figura 1 – Valores de clorofila *a* em diferentes concentrações de fósforo ao longo de 50 dias de experimento; **A**: MBB, **B**: MBB+P, **C**: MBB-P. (□ amostras, ■ média)

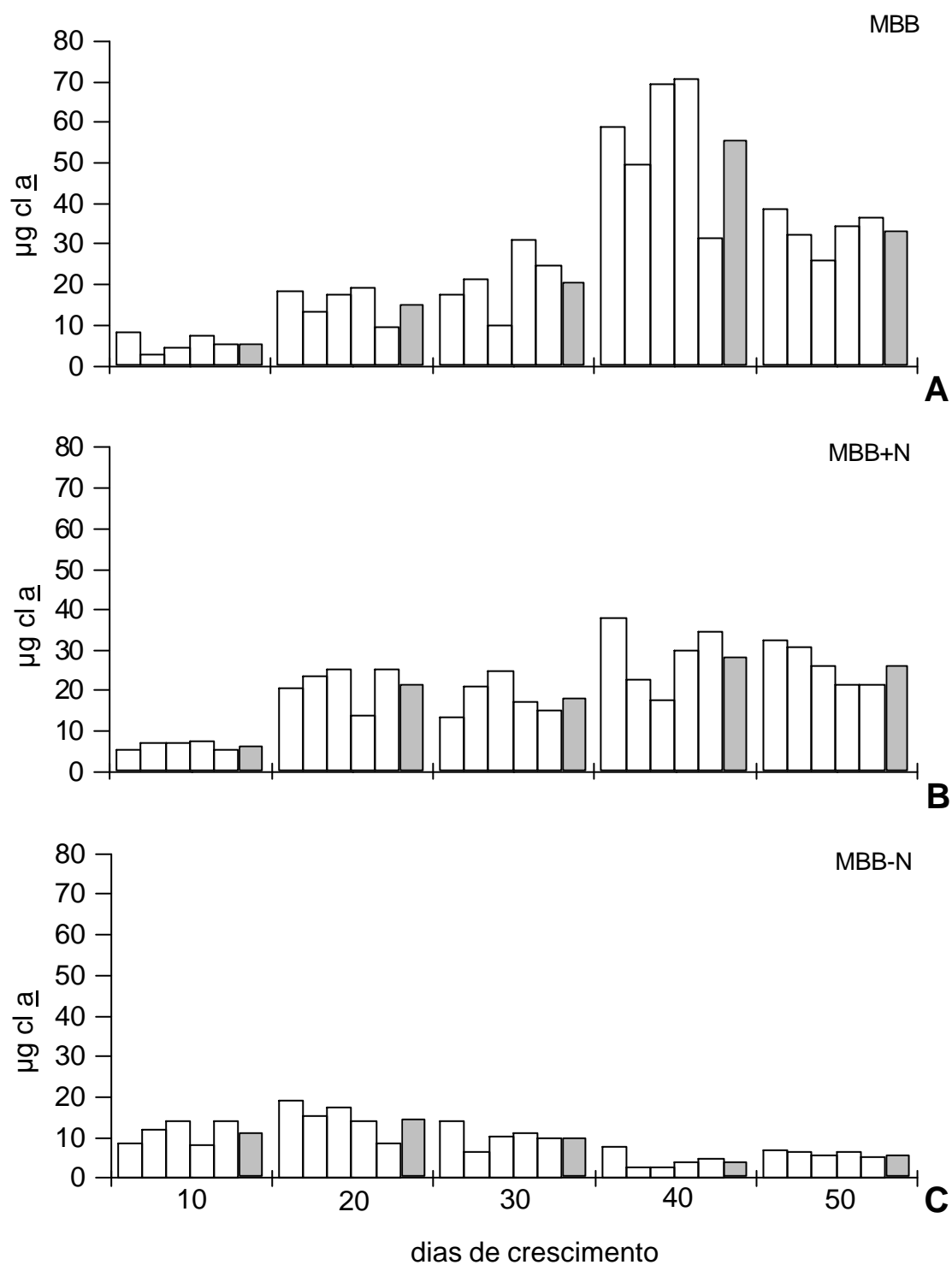


Figura 2 – Valores de clorofila *a* em diferentes concentrações de nitrogênio ao longo de 50 dias de experimento; **A**: MBB, **B**: MBB+N, **C**: MBB-N. (□ amostras, ■ média).

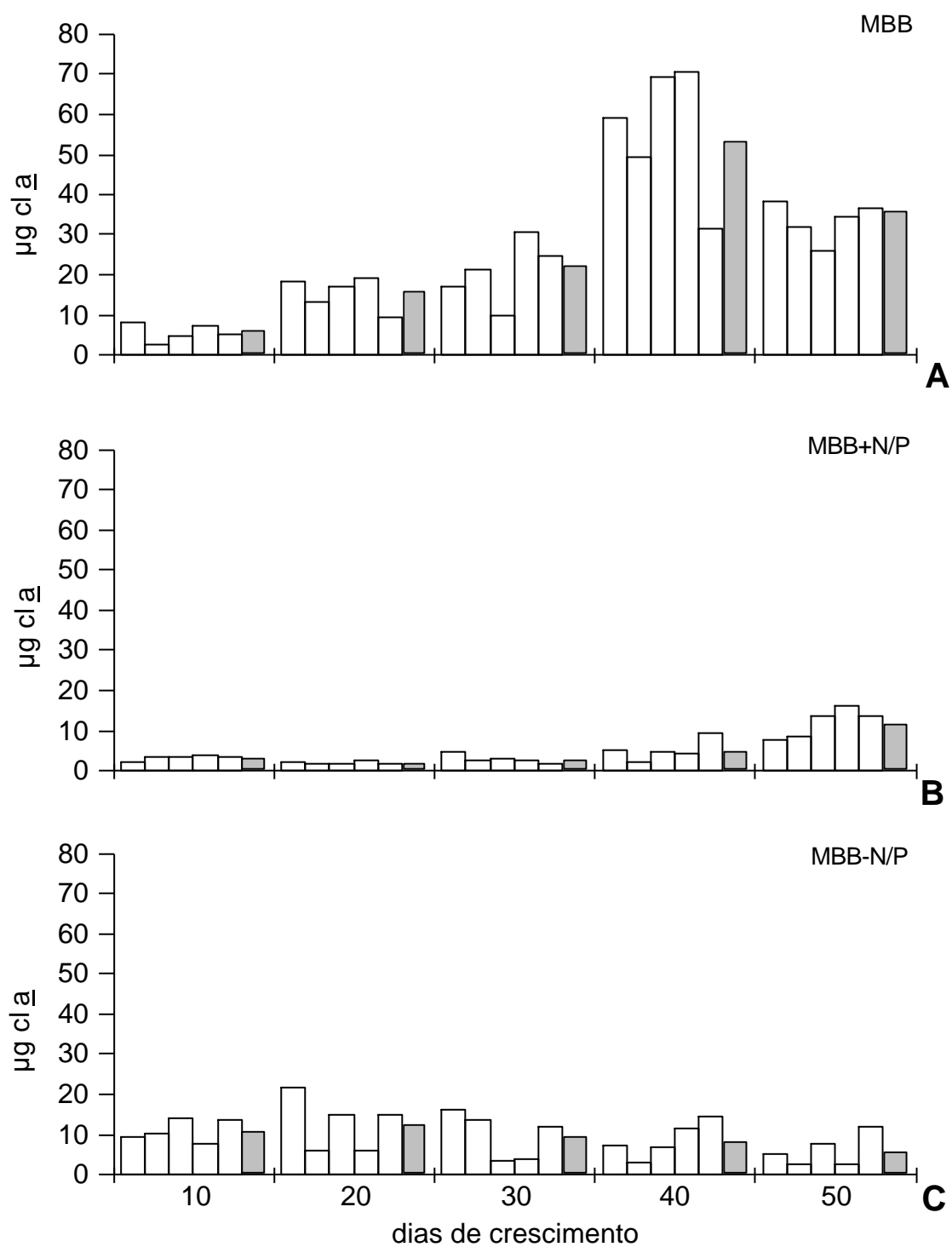


Figura 3 – Valores de clorofila *a* em diferentes concentrações de nitrogênio/fósforo ao longo de 50 dias de experimento; **A:** MBB, **B:** MBB+N/P, **C:** MBB-N/P. (□ amostras, ■ média).

No experimento envolvendo a interação de fósforo e nitrogênio, a ANOVA revelou que em todos os períodos de crescimento houve diferenças significativas: 10° (F=17,11; p<0,00), 20° (F=12,21; p<0,001), 30° (F=12,71; p<0,001), 40° (F=42,03; p<0,00) e 50° dias (F=59,30; p<0,00). O Teste *t* de Tukey mostrou que o crescimento algal medido quanto à taxa de produção de clorofila a em meio padrão MBB e entre MBB-N/P foi significativamente diferente no 30°, 40° e 50° dias; enquanto entre o padrão MBB e MBB+N/P a diferença significativa ocorreu no 10°, 20°, 30°, 40° e 50° dias de incubação. Já entre os meios MBB-N/P e MBB+N/P houve diferenças significativas apenas entre os períodos de 10 e 20 dias de crescimento.

Os dados médios de clorofila a obtidos ao longo de todo o período estudado nos 3 tratamentos, foram transformados em porcentagem, considerando-se como referência os valores observados nos cultivos em MBB, adotado como padrão neste estudo (Tabela 5 e Figura 4). A porcentagem foi calculada a partir dos valores médios de rendimento de clorofila a de cada tratamento divididos pelo valor obtido em MBB.

Durante os 50 dias de crescimento a produção de clorofila a no meio MBB foi maior do que a produtividade observada nos tratamentos (Tabela 5). Quando mais nitrogênio foi adicionado ao meio de cultura (MBB+N) a resposta de crescimento algal foi cerca de 77% do obtido em MBB, enquanto em meio contendo mais fósforo que o padrão (MBB+P), a taxa de crescimento (54%) foi quase a metade de MBB (Figura 4). A produtividade de *S. leibleinii*, expresso pela produção de clorofila a em meios de cultura apresentando concentrações de nitrogênio e fósforo inferiores ao padrão (MBB-N e MBB-P), foi baixa apenas em relação ao nitrogênio (35%), enquanto em relação ao fósforo, a taxa de crescimento (60%) assemelhou-se ao observado em meio MBB+P (Figura 4). Os valores observados nos tratamentos envolvendo as interações de fósforo e nitrogênio (MBB+N/P=18,6%) foram expressivamente inferiores em relação aos tratamentos dos nutrientes isolados, com exceção de MBB-N/P (36,25%) que praticamente igualou-se a MBB-N.

A ANOVA entre os valores obtidos nos diferentes tratamentos de variação de nutrientes mostrou que os mesmos eram significativamente

diferentes ($F=13,26$; $p<0,00$). O Teste t de Tukey demonstrou que em MBB-N, MBB+P, MBB-P, MBB+N/P e MBB-N/P, a produção de clorofila a foi significativamente diferente da produção em meio MBB, enquanto que em MBB+N, a produtividade não foi significativamente diferente de MBB.

Tabela 5 – Valores de clorofila a em μg por amostra expressando a biomassa de *S. leibleinii* em diferentes meios de cultura por um período de 50 dias.

	MEIOS DE CULTURA						
	MBB	MBB+P	MBB-P **	MBB+N	MBB-N	MBB+N/P	MBB-N/P
<i>Média*</i>	26,01	13,94	15,62	20,06	9,17	4,84	9,43
<i>ep</i>	3,87	1,98	1,48	1,86	0,90	0,84	1,0
<i>Mín</i>	2,31	0,58	1,44	5,20	2,60	1,44	2,31
<i>Max</i>	70,23	32,08	28,32	37,86	18,79	16,18	21,39

*n = 25, **n = 24.

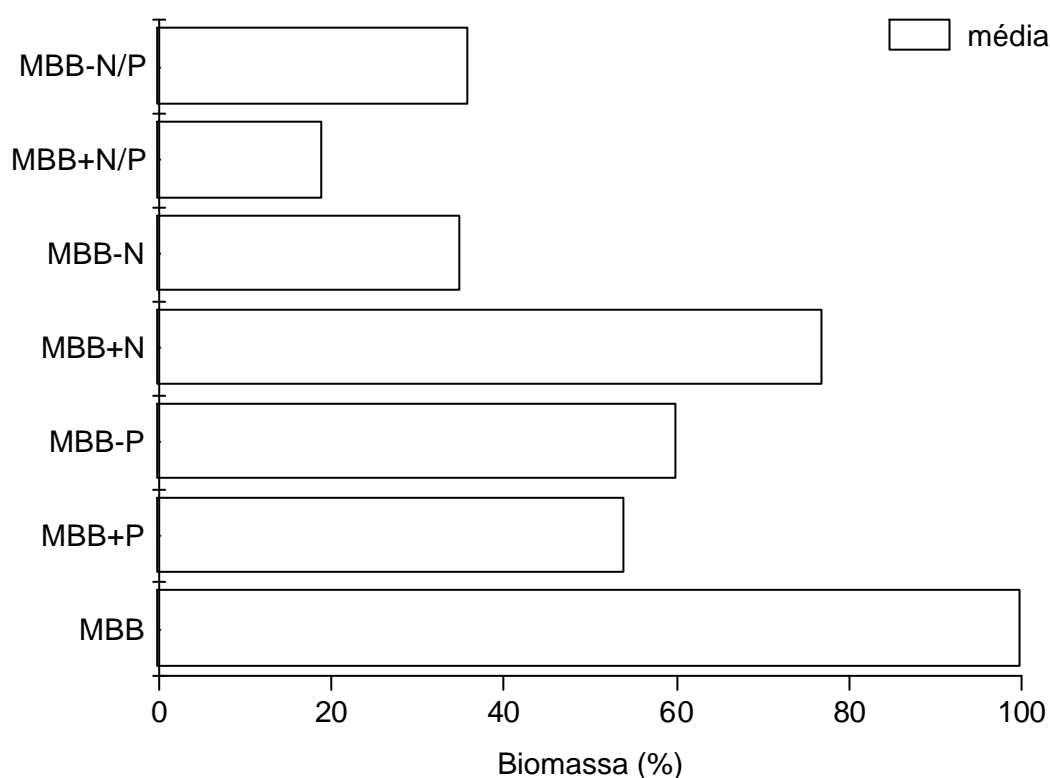


Figura 4 – Variação média (porcentagem) na biomassa de *S. leibleinii* em termos de clorofila a durante 50 dias de crescimento em diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Respostas de crescimento à variação de nutrientes

Com exceção apenas de MBB+N, cuja concentração de clorofila a no 10º dia esteve próxima do padrão (MBB), a produtividade relativamente superior a MBB nos 10 primeiros dias de crescimento foi observada nos meios MBB-P, MBB-N e MBB-N/P. Estes dados sugerem que o crescimento algal ocorreu de maneira mais rápida nestes tratamentos do que no padrão MBB e nos tratamentos com maiores concentrações de PO_4 e NO_3 isolados ou em associação. Isto indica que a alga, em virtude da deficiência destes nutrientes isolados ou associados, disponibilizou boa parte de sua energia na reprodução como uma forma de sobreviver às condições tidas como adversas para a mesma. Sabe-se que mudanças súbitas no ambiente provocam, na maioria das vezes, uma esporulação abundante (SMITH, 1987). De acordo com McBRIDE (1968), que efetuou experimentos envolvendo a produção de zoósporos em *S. leibleinii*, a mesma esporulava copiosamente quando era submetida a um meio de cultura diluído com água destilada.

Os organismos e suas populações só podem crescer ou se reproduzir caso consigam adquirir mais energia do que a necessária para a sua manutenção (ODUM, 1988). Em ambientes com baixa densidade populacional, a pressão seletiva favorece espécies com um potencial reprodutivo alto. Por outro lado, as condições de alta densidade favorecem organismos com potencial reprodutivo menor, mas com melhores capacidades para aproveitar e competir por recursos escassos. Dessa maneira, estes dois modos de vida são conhecidos como seleção r e k , e as espécies que as exibem são denominadas, respectivamente, como estrategistas em r e k (ODUM, 1988).

De acordo com BIGGS et al. (1998) e ODUM (1988), as espécies estrategistas em r são capazes de aumentar a população rapidamente, em função das altas taxas de reprodução e crescimento, sob condições de baixa densidade populacional ou em habitats sujeitos a perturbações periódicas (p.

ex. espécies pioneiras). Por outro lado, os estrategistas em k apresentam um potencial de crescimento menor, pois dividem energia em favor de sua manutenção e desta maneira são capazes de obter sucesso competitivo em condições de alta densidade populacional. Espécies clímax, por exemplo, são mais eficientes na competição por recursos em habitats de estabilidade prolongada (BIGGS et al., 1998; ODUM, 1988).

Analisando-se os gráficos do crescimento de *S. leibleinii* obtidos em MBB, MBB+P e MBB+N, conclui-se que os mesmos são típicos de espécies estrategistas em k (curva sigmoidal), mostrando inclusive, que sob altas concentrações de NO_3 (1825 mg.L^{-1}) e PO_4 (1594 mg.L^{-1}) esta espécie mantém um padrão de crescimento, apesar da produtividade ser baixa. BIGGS et al. (1998) estudaram várias espécies de algas e as classificaram em subgrupos de estrategistas em k , denominados *C*, *S* e *R*. Os estrategistas pertencentes ao subgrupo *C* são adaptados fisiologicamente a altas concentrações de nutrientes inorgânicos, pois vivem em habitats eutrofizados, como acontece com *S. leibleinii*. Além disso, BIGGS et al. (1998) apresentaram características consideradas adequadas a estrategistas k (subgrupo *C*), que são encontradas com frequência em *S. leibleinii*, como: a) formação de uma estrutura filamentosa com células médias a grandes, que compete melhor por nutrientes e luz, b) sistema basal de fixação (p.ex. rizóides) que fornece grande resistência ao fluxo d' água, c) capacidade de formar grandes biomassas e d) freqüente reprodução por zoosporogênese ou fragmentação dos filamentos.

Com exceção de MBB-N, que obteve a produtividade máxima no 20^o dia, tanto o padrão (MBB) quanto os demais tratamentos dos isolados de nitrogênio e fósforo mantiveram a produtividade máxima aos 40 dias de cultivo, indicando a limitação de crescimento da espécie, possivelmente pelo esgotamento destes nutrientes do meio de cultura.

Efeitos do PO_4 e NO_3 na produtividade do crescimento algal

A avaliação global dos efeitos de PO_4 e NO_3 mostrou que quando o meio de cultura MBB apresentou baixas concentrações de fósforo ($15,94 \text{ mg.L}^{-1}$ de

PO₄) e/ou nitrogênio (18,2 mg.L⁻¹ NO₃) houve respostas positivas quanto à produtividade, mas inferior em relação ao padrão. Efeito semelhante foi observado por DE VRIES et al. (1985) em experimentos envolvendo os efeitos de fósforo e nitrogênio na produtividade de *Stigeoclonium*. A resposta de crescimento observada em MBB-N/P contendo 15,94 mg.L⁻¹ de PO₄ e 18,2 mg.L⁻¹ de NO₃ foi muito semelhante à obtida em MBB-N (18,2 mg.L⁻¹ de NO₃) sugerindo maior sensibilidade de *Schizomeris leibleinii* a baixas concentrações de NO₃ que as de PO₄, indicando o nitrogênio como nutriente limitante do crescimento neste meio de cultura.

O aumento na concentração de NO₃ em MBB+N (1825 mg.L⁻¹) também aumentou a produtividade de *S. leibleinii* (77%) mas, no entanto, sem superar os valores observados em MBB. A redução de NO₃ em MBB-N (18,2 mg.L⁻¹), por outro lado, provocou uma resposta negativa da alga (35%) a esta concentração. Sob altas concentrações de PO₄, a resposta de crescimento foi inferior (54%) à resposta obtida em MBB+N. Contudo, a produtividade observada em MBB-N/P (36,25%) foi praticamente a mesma de MBB-N (35%), sugerindo que alga é mais sensível às alterações nas concentrações de nitrogênio. Estes resultados novamente indicam que NO₃ é o nutriente limitante à produtividade em *S. leibleinii*, pois a alga respondeu com maior produtividade a altas concentrações de NO₃ do que em altas concentrações de PO₄. DE VRIES et al. (1983) observaram efeitos semelhantes em análises feitas com onze linhagens de *Stigeoclonium* crescendo sob várias concentrações de nitrogênio e fósforo.

A produtividade de *S. leibleinii* em MBB+N/P (19%) foi baixa quando comparada à produtividade observada em MBB+P (54%) e MBB+N (77%). Estes resultados sugerem que mesmo quando concentrações adequadas de nitrogênio são fornecidas, o excesso de fósforo torna-se um fator limitante, pois se acredita que o mesmo possa estar influenciando negativamente a absorção de nitrogênio ou inibindo o seu aproveitamento pela alga.

As produtividades médias verificadas em MBB+P e MBB-P foram muito semelhantes (54% e 60%, respectivamente) indicando que *S. leibleinii* tolera grandes concentrações de PO₄ (15,94 mg.L⁻¹ a 1594 mg.L⁻¹). Já com NO₃, a

resposta de crescimento foi relativamente alta, mas limitada em MBB+N (1825 mg.L⁻¹) mostrando limitação na absorção desta forma de nitrogênio sob esta concentração. Os resultados encontrados por DE VRIES et al. (1983) indicaram que, em águas contendo concentrações abaixo de 0,7 mg.L⁻¹ de fósforo, *Stigeoclonium* não apresenta nenhum crescimento acentuado, enquanto a produtividade máxima ocorreu em águas contendo 3,75 mg.L⁻¹ de nitrogênio. FRANCKE & TEN CATE (1980), no entanto, observaram a produtividade máxima em *Stigeoclonium tenue* ocorrendo em níveis maiores que 3 mg.L⁻¹ de fósforo.

O crescimento algal obtido em meio de Bold (MBB) foi maior quando comparado aos demais tratamentos, sugerindo, assim, que as concentrações de nitrogênio (182,3 mg.L⁻¹) e fósforo (159,4 mg.L⁻¹) presentes em MBB podem ser consideradas mais favoráveis ao crescimento de *Schizomeris leibleinii*. Deve-se observar que, as concentrações de PO₄ e NO₃ no meio de Bold são bem superiores quando comparadas a ambientes de águas naturais oligotróficas, como por exemplo, aos valores encontrados por NECCHI et al. (2000) em riachos da Bacia do Rio São Francisco (1,2µg.L⁻¹ a 1,7µg.L⁻¹ de PO₄ e 66 µg.L⁻¹ a 104 µg.L⁻¹ de NO₃). Os valores de concentração de NO₃ e PO₄ no meio de Bold podem ser considerados elevados até mesmo quando confrontados com águas de ambientes eutrofizados. BRANCO & PEREIRA (2002), em estudo realizado em um riacho impactado por poluição orgânica no noroeste do estado de São Paulo (Ribeirão Claro) encontraram valores de 2,3 mg.L⁻¹ a 2,6 mg.L⁻¹ de NO₃ e 0,55 mg.L⁻¹ a 0,7 mg.L⁻¹ de Ptotal. BIGGS (1989), em um rio recebendo resíduos de um matadouro em Canterbury, Nova Zelândia (South Branch river), registrou concentrações de 226 µg.L⁻¹ de NO₃ e 105 µg.L⁻¹ de PO₄. CONFORTI et al. (1995), em estudos no Rio Matanza-Riachuelo na Argentina, observaram valores de 11,3 a 12,8 mg.L⁻¹ de Ntotal e 1,63 mg.L⁻¹ de Ptotal.

Considerando-se que o fósforo freqüentemente limita a produtividade de plantas e outros autótrofos em ambientes aquáticos (ALLAN, 1995), *S. leibleinii* mostrou grande tolerância às concentrações deste nutriente, concordando com

BRANCO & PEREIRA (2002) que encontraram correlação entre fósforo total e a biomassa desta alga em ambiente poluído.

O nitrogênio mostrou ser o nutriente limitante ao crescimento desta clorófitica, inclusive, revelando grande tolerância a altas concentrações deste nutriente. No entanto BRANCO & PEREIRA (2002), encontraram correlação positiva entre *S. leibleinii* e a concentração de NH_4 no ambiente. Contudo, BUSHONG & BACHMANN (1989) observaram em alguns experimentos “in situ” envolvendo algas do perifiton, que a adição de NH_4 e não NO_3 estimulava o crescimento do mesmo; todavia esta resposta não foi interpretada como limitação de nitrogênio, visto que ambas as formas podem conter o nutriente limitante. De acordo com SYRETT (1962) e MORRIS (1974) menos energia é necessária para assimilar NH_4 que NO_3 , visto que o NH_4 está disponível para a utilização diretamente após a absorção, enquanto que o NO_3 deve primeiramente ser reduzido a NH_4 antes da utilização, processo este que requer substancial energia.

De acordo com os presentes resultados e com dados de literatura (CHOWDARY, 1967; CAMPBELL & SARAFIS, 1972; SARMA & CHAUDHARY, 1975; YADAVA & PANDEY, 1980; DIAS, 1985; NECCHI et al., 1994; TIWARI, 1994; ENTWISLE et al., 1997; BRANCO & PEREIRA, 2002), pode-se considerar que *S. leibleinii* é um importante indicador biológico de poluição orgânica, pois apresenta crescimento acentuado em condições eutróficas.

Embora a espécie possa ter papel relevante na indicação biológica de poluição orgânica, o ideal para a avaliação ambiental é a informação fornecida pela comunidade (KELLY, 1998; KELLY & WHITTON, 1998; McCORMICK & CAIRNS, 1994; SHAJI & PATEL, 1991; VIS et al., 1998). Neste sentido, o desenvolvimento de índices ecológicos específicos para ambientes tropicais deve ser estimulado (KELLY, 1998). A inclusão de *S. leibleinii* deverá ser imprescindível para a produção de um índice baseado nas macroalgas, considerando-se sua importância e alta frequência de ocorrência em ambientes lóticos tropicais eutrofizados.

BIBLIOGRAFIA

ALLAN, J. D. **Stream ecology**: structure and function of running waters. New York: Chapman & Hall, 1995.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19. ed. Washington, D.C.: APHA, 1995.

BIGGS, B. J. F. Biomonitoring of organic pollution using periphyton, South Branch, Canterbury, New Zealand. **N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.**, Wellington, v. 23, p. 263-274, 1989.

BIGGS, B. J. F.; STEVENSON, R. J.; LOWE, R. L. A habitat matrix conceptual model for stream periphyton. **Arch. Hydrobiol.**, Stuttgart, v.143, n. 1, p. 21-56, 1998.

BRANCO, L. H. Z.; PEREIRA, J. L. Evaluation of seasonal dynamics and bioindication potential of macroalgal communities in polluted tropical stream. **Arch. Hydrobiol.**, Stuttgart, v. 155, n. 1, p. 147-161, 2002.

BUSHONG, S. J.; BACHMAN, R. W. In situ nutrient enrichment experiments with periphyton in agricultural streams. **Hydrobiologia**. Dordrecht, v. 178, p. 1-10, 1989.

CAMPBELL, E. O.; SARAFIS, V. *Schizomeris* - a growth form of *Stigeoclonium tenue* (Chlorophyta: Chaetophoraceae). **J. Phycol.**, Lawrence, v. 8, p. 276-282, 1972.

CHOWDARY, Y. B. K. A cytological study of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Rev. Algol.**, Paris. v. 8, p. 302-306, 1967

CONFORTI, V.; ALBERGHINA, J.; URDA, E.G. Structural changes and dynamics of the phytoplankton along a highly polluted lowland river of Argentina. **J. Aquat. Ecosyst. Health**, Dordrecht, v. 4, p. 59-75, 1995

DE VRIES, P. J. R.; DE SMET, S. J. M.; HEIDE, J. van der. Effects of phosphorus and nitrogen enrichment on the yield of some strains *Stigeoclonium* Kütz. (Chlorophyceae). **Freshwat. Biol.**, Oxford, v. 15, p. 95-103, 1985.

DE VRIES, P. J. R.; HOTTING, E. J. Bioassays with *Stigeoclonium tenue* Kütz. on waters receiving sewage effluents. **Water Res.**, London, v. 19, n. 11, p. 1405-1410, 1985.

DE VRIES, P. J. R.; TORENBEEK, M.; HILLEBRAND, H. Bioassays with *Stigeoclonium* Kütz. (Chlorophyceae) to identify nitrogen and phosphorus limitations. **Aquat. Bot.**, Amsterdam, v. 17, p. 95-106, 1983.

DIAS, I. C. A. Chlorophyta filamentosas da Lagoa de Juturnaíba, Araruama, Rio de Janeiro. **Revta. brasil. Bot.**, São Paulo, v. 8, p. 93-99, 1985.

ENTWISLE, T. J.; SONNEMAN, J. A.; LEWIS, S. H. **Freshwater Algae in Australia**. Melbourne: Sainty & Associates, 1997.

FRANCKE, J. A.; TEN CATE, H. J. Ecotypic differentiation in response to nutritional factors in the algal genus *Stigeoclonium* Kütz. (Chlorophyceae). **Br. phycol. J.**, London, v. 15, p. 343-355, 1980.

HILLEBRAND, H. Development and dynamics of floating clusters of filamentous algae. In: WETZEL, R. G. (Ed.) **Periphyton in Freshwater Ecosystems**. Hague: Junk Publishers, 1983. p. 31-39.

KELLY, M. G. Use of community-based indices to monitor eutrophication in European rivers. **Environ. Conserv.**, Lausanne, v. 25, n. 1, p. 22-29, 1998.

KELLY, M. G.; WHITTON, B. A. Biological monitoring of eutrophication in rivers. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 38, p. 55-67, 1998.

KLAPWIJK, S. P.; DE BOER, T. F.; RIJS, M. J. Effect of agricultural wastewater on benthic algae in ditches in the Netherlands. In: WETZEL, R. G. (Ed.) **Periphyton in Freshwater Ecosystems**. Hague: Junk Publishers, 1983. p. 311-319.

KOMÁREK, J.; LHOTSKÝ, O. Review of algal assay strains. In: MARYAN, P.; PRIBIL, S.; LHOTSKY, O. (Ed.) **Algae Assays and Monitoring Eutrophication**. Stuttgart: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, 1979. p. 103-118.

MALONEY, T. E.; MILLER, W. E. Algal assays: development and application of water quality parameters. In: **American Society for Testing and Materials**, ASTM STP 573. [S.I.], 1975. p. 344-355.

McBRIDE, G. E. A classroom demonstration of zoospore production in the green alga *Schizomeris leibleinii* Kuetz. **J. Phycol.**, Lawrence, v. 4, p. 251-252, 1968.

McCORMICK, P. V.; CAIRNS, J. Jr. Algae as indicators of environmental change. **J. Appl. Phycol.**, Dordrecht, v. 6, p. 509-526, 1994.

MILLER, W. E.; MALONEY, T. E.; GREEN, J. C. Algal productivity in 49 lakewaters as determined by algal assays. **Water Res.**, London, v. 8, p. 667-679, 1974.

MORRIS, I. Nitrogen assimilation and protein synthesis. In: STEWARD, W. D. P. **Algal Physiology and Biochemistry**. Berkeley: University of California Press, 1974. *Apud* BUSHONG, S. J. & BACHMANN, R. W. In situ nutrient enrichment experiments with periphyton in agricultural streams. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 178, p. 1-10, 1989.

NECCHI, O. Jr.; BRANCO, L.H.Z.; BRANCO, C.C.Z. Características limnológicas da bacia do Alto Rio São Francisco, Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais. **Acta. Limnol. Bras.**, São Carlos, v. 12, p. 11-22, 2000.

NECCHI, O. Jr.; BRANCO, L. H. Z.; DIP, M. R. Uso de macroalgas para avaliação da poluição orgânica no Rio Preto, noroeste do estado de São Paulo. **An. Acad. bras. Ci.**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 3, p. 359-371, 1994.

NICHOLS, H. W. Growth media-freshwater. In:_____. **Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements**. Cambridge: Cambridge University Press, 1973. p. 7-24.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Tradução de Christopher J. Tribe. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

PAL, R.; CHATTERJEE, P.; DAS, T. M. Algological evaluation of organic pollution level of Hugli estuary, West Bengal, India. **Phykos**, New Dheli, v. 31, n. 1&2, p. 69-75, 1992.

RYAN, B. F.; JOINER, B. L.; RYAN, T. J. Jr. **Minitab handbook**. Boston: Duxbury, 1985.

SARMA, Y. S. R. K.; CHAUDHARY, B. R. On a new cytological race of *Schizomeris leibleinii* Kütz. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 47, n. 2, p. 181-191, 1975.

SHAJI, C.; PATEL, R. J. Chemical and biological evaluation of pollution in the river Sabarmati at Ahmedabad, Gujarat. **Phykos**, New Dheli, v. 30, n. 1 & 2, p. 91-100, 1991.

SMITH, G. M. **Botânica Criptogâmica**. 4. ed. Tradução de Carlos das Neves Tavares. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. v. 1.

SYRETT, P. J. Nitrogen assimilation. In: LEWIN, R.A., **Physiology and Biochemistry of Algae**. New York: Academic Press, 1962. *Apud* BUSHONG, S. J. & BACHMANN, R. W. In situ nutrient enrichment experiments with periphyton in agricultural streams. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 178, p. 1-10, 1989.

TIWARI, M. G. New record of *Schizomeris leibleinii* (alga) from polluted habitats of south Chotanagpur, Bihar. **J. Ecobiol.**, New Dheli, v. 6, n. 1, p. 71-72, 1994.

VIS, C.; HUDON, C.; CATTANEO, A.; PINEL-ALLOUL, B. Periphyton as an indicator of water quality in the St. Lawrence River (Québec, Canada). **Environ. Poll.**, London, v. 101, p. 13-24, 1998.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological Analyses**. 2. ed. New York : Springer-Verlag, 1990.

WETZEL, R. G.; WESTLAKE, D. F. (1971) Periphyton. pp. 42-50. In: VOLLENWEIDER, R. A. **A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments**. IBP Handbook No. 12. Blackwell, Oxford. *Apud* WETZEL, R. G. & LIKENS, G. E. **Limnological Analyses**. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 1990.

WILLE, N. Conjugate und Chlorophyceae. In: ENGLER, A.; PRANTL, K. Die Naturalichen Pflanzenfamilien Teil, v. 1, p. 1-175, 1890.

YADAVA, R. N.; PANDEY, D. C. Certain cultural observations on *Schizomeris leibleinii* Kuetz. **Phykos**, New Dheli, v. 19, n. 2, p. 204-209, 1980.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante os resultados obtidos foi possível concluir que:

1. *Schizomeris leibleinii* apresenta grande amplitude morfométrica que, segundo dados de literatura e os resultados presentemente obtidos, é influenciada por condições ambientais.
2. Os caracteres morfológicos de maior importância taxonômica (sistema basal) devem ser melhor considerados. Devido a grande variedade de formas apresentadas pelas populações, é provável que alguns tipos representem, na verdade estágios de desenvolvimento intermediário. Segundo nossos dados e interpretações, apenas duas formas típicas, rizóide e apressório, devem ser consideradas.
3. O gênero *Schizomeris* até o momento deve contar apenas com *Schizomeris leibleinii* como espécie, pois, a partir dos dados apresentados e da literatura, as outras espécies, *S. indicum* e *S. irregularis*, não estão bem caracterizadas. É possível, no entanto, que as mesmas sejam apenas estágios de desenvolvimento de *S. leibleinii* permitindo, assim, serem limitadas a sinônimos.
4. Estudos mais detalhados são necessários para o detalhamento do histórico de vida de *S. leibleinii*, principalmente com o objetivo de se averiguar a ocorrência ou ausência de alternância de gerações na espécie. Os dados citológicos obtidos revelaram diferenças com resultados de outros pesquisadores o que pode significar, de acordo com alguns autores, a existência de raças citológicas nesta espécie.
5. De acordo com os experimentos envolvendo a zoosporogênese, a espécie em estudos realmente pode ser considerada *S. leibleinii* devido às

características observadas quanto a essa forma de reprodução coincidirem com as análises de demais pesquisadores.

6. Sob condições de estresse ambiental *S. leibleinii* inicialmente apresenta um rápido crescimento possivelmente acompanhado de altas taxas de reprodução.
7. A alga verde *S. leibleinii* pode ser considerada como um estrategista *k* (subgrupo C). Os estrategistas pertencentes ao subgrupo C são adaptados fisiologicamente a altas concentrações de nutrientes inorgânicos, já que normalmente vivem em habitats eutrofizados, como acontece com *S. leibleinii*, além disso, apresentam características, que são encontradas com freqüência nesta espécie, como: a) formação de uma estrutura filamentosa com células médias a grandes, que compete melhor por nutrientes e luz, b) sistema basal de fixação (p.ex. rizóides) que fornece grande resistência ao fluxo d' água, c) capacidade de formar grandes biomassas e d) freqüente reprodução por zoosporogênese ou fragmentação dos filamentos.
8. *S. leibleinii* mostrou maior sensibilidade a baixas concentrações de NO_3 que de PO_4 , indicando o nitrogênio como nutriente limitante do crescimento neste meio de cultura.
9. A amplitude morfométrica e ecológica observada em *S. leibleinii* propiciam a esta alga, capacidade de se adaptar às condições ambientais (p.ex. eutrofização) que normalmente não são toleradas por outras espécies algais, constituindo-se, assim, em uma importante espécie de ambientes lóticos tropicais indicadora de níveis elevados de nutrientes orgânicos.

RESUMO

Schizomeris leibleinii Kützing (Chaetophorales, Chlorophyta) é uma espécie algal comumente encontrada em ambientes aquáticos continentais eutrofizados ou poluídos por nutrientes orgânicos. Trata-se de uma alga filamentosa, desprovida de ramificações que apresenta sistema basal de fixação diferenciado. Os filamentos jovens são finos e unisseriados com células regulares, enquanto os filamentos mais velhos são espessos e multisseriados com células irregulares. Além de *S. leibleinii*, o gênero *Schizomeris* inclui outras duas espécies, *S. irregularis* Fritsch & Rich e *S. indicum* (como *Uronema indicum* Ghose), deficientemente caracterizadas. Sugere-se que o sistema basal de fixação seria uma característica confiável na distinção entre as possíveis espécies. Devido ao hábitat onde geralmente se encontra (eutrofizado), *S. leibleinii* apresenta grande potencial como um bom organismo indicador de poluição orgânica. O conhecimento de sua biologia e de sua capacidade de tolerância às condições ambientais torna-se importante para projetos futuros de biomonitoramento ou indicação das condições tróficas de águas continentais. Para tanto é também necessário o esclarecimento correto sobre a taxonomia do gênero.

Estudos taxonômicos foram realizados a partir de análises da variação morfométrica e morfológica entre indivíduos de onze populações espacialmente distintas e entre indivíduos de duas populações avaliadas mensalmente. Além desta abordagem, análises de características cariológicas e da zoosporogênese também foram avaliadas para complementar as informações necessárias à avaliação taxonômica. Dados da variação morfométrica e morfológica foram tratados estatisticamente pelos testes de ANOVA – uma via, *t* de *Student* e análise de grupamento para se verificar as diferenças entre as características morfológicas das diferentes populações e sua relação com a taxonomia da espécie. Parâmetros ambientais foram coletados nas populações avaliadas mensalmente e submetidos à correlação r de Pearson.

Estudos de amplitude ecológica foram realizados mediante o cultivo de *S. leibleinii* em Meio Básico de Bold e sob variações nas concentrações de fósforo e nitrogênio, durante um período de 50 dias, com retiradas a cada 10 dias para quantificação da biomassa por meio de extração de clorofila a. Dados de amplitude ecológica foram analisados através da ANOVA – uma via e pelo teste de comparação múltipla de médias de Tukey para a confirmação se as amostras de *S. leibleinii* responderam aos tratamentos.

A espécie mostrou ampla variação morfométrica, sendo mais acentuada entre as populações de diferentes localidades (espacial) do que as observadas nas mesmas populações (temporal). Todos os sistemas basais descritos para as demais espécies do gênero manifestaram-se em *S. leibleinii*. O número cromossômico encontrado ($n = 12$) diferiu da literatura, enquanto os dados de zoosporogênese concordaram com as informações disponíveis.

De acordo com os resultados pode-se concluir que *S. leibleinii* apresenta grande amplitude morfométrica influenciada por fatores ambientais. Entretanto, tal amplitude não é suficiente para separar diferentes entidades, visto que os dados da análise de grupamento revelaram grupos relativamente coesos (acima de 50% de similaridade) em todas as análises procedidas. Dessa forma podemos concluir que o gênero *Schizomeris* deve conter apenas a espécie *S. leibleinii*, pois, com base nos dados apresentados e de literatura, nota-se grande superposição com as outras possíveis espécies, *S. indicum* e *S. irregularis*. As informações cariológicas encontradas e suportadas pela literatura sugerem que o material estudado seja uma nova raça cromossômica de *S. leibleinii*. Entretanto, estudos mais detalhados devem ser conduzidos para uma melhor conclusão sobre esta possibilidade.

O estudo sobre o desenvolvimento de *S. leibleinii* revelou que a espécie apresenta crescimento rápido sob baixas concentrações de nitrogênio e fósforo, mas o melhor desempenho ocorreu em concentrações relativamente elevadas dos nutrientes estudados. Observou-se também um crescimento significativo sob altas concentrações de ambos os nutrientes.

Condições de estresse ambiental provocam inicialmente, nesta espécie, crescimento rápido, possivelmente acompanhado de intensa reprodução. A

espécie *S. leibleinii* foi mais sensível a baixas concentrações de NO_3 do que de PO_4 , indicando o nitrogênio como limitante do crescimento em meio de cultura.

A amplitude morfométrica e ecológica observada em *S. leibleinii* propiciam a esta alga, capacidade de se adaptar às condições ambientais que normalmente não são toleradas por outras espécies algais. Embora a melhor avaliação biológica para a caracterização de um determinado hábitat deva ser procedida com base na comunidade e não em um único organismo, *S. leibleinii* pode ser considerada uma importante espécie indicadora de níveis elevados de nutrientes orgânicos em águas continentais de ambientes tropicais.

ABSTRACT

Schizomeris leibleinii Kützing (Chaetophorales, Chlorophyta) is an algal species commonly found in continental aquatic environments that are eutrophic or polluted by organic nutrients. It is a filamentous alga, without ramifications, that presents a differentiated basal attachment system. The young filaments are thin and uniseriate with regular cells, while the oldest filaments are thick and multiseriate with irregular cells. Besides *S. leibleinii*, the genus *Schizomeris* contains two other species, *S. irregularis* Fritsch & Rich and *S. indicum* (Ghose) Fritsch & Rich, deficiently characterized. It is suggested that the basal attachment system would be a reliable characteristic of distinction among the species. Due to the habitat where it is usually found (eutrophic), *S. leibleinii* shows high potential as a good indicator of organic pollution. The knowledge of its biology and tolerance to the environmental conditions is important for future projects of biomonitoring or indication of the trophic conditions of continental waters. To that, it is necessary to correctly discern about the taxonomy of the genus.

Taxonomic studies were conducted by the analyses of morphometrical and morphological variation of the filaments in eleven spatially distinct populations and among specimens from two different populations monthly evaluated. In addition, analyses of karyological characteristics and of the zoosporogenesis were proceeded to complement the necessary information to taxonomic assessment. The data of the morphometrical and morphological variation were evaluated by ANOVA (one way), *Student's* t-test and cluster analysis to verify the differences between the morphological characteristics of the different populations and their relationships with the taxonomy of the species. Environmental parameters were collected in the monthly-evaluated populations and submitted to the Pearson's correlation (r).

Studies on the ecological amplitude of *S. leibleinii* were made by the cultivation in Bold's basal medium and under different variations of phosphorus and nitrogen concentrations, during a period of 50 days, with quantification of

the biomass by chlorophyll *a* extraction at each 10-day intervals. Data of ecological amplitude were analyzed through ANOVA (one way) and by the test of multiple comparisons of averages of Tukey for the confirmation if the samples of *S. leibleinii* responded to the treatments.

The species showed extensive morphometrical variation, being more accentuated among populations of different localities (space) than that observed in the same populations (temporal). All basal systems described for other species of the genus were found in *S. leibleinii*. The chromosomal number found ($n = 12$) differed from the literature and the data about zoosporogenesis agreed with the available information.

In accordance with the results, it can be concluded that *S. leibleinii* presents wide morphometrical amplitude and these expressions can be influenced by environmental factors. However, such wide amplitude is not enough to separate different taxonomic entities, because the cluster analyses revealed relatively high associated groups (over 50% of similarity) in all approaches conducted. Thus, we propose that the genus *Schizomeris* should contain only the species *S. leibleinii*, because, on the basis of our results and literature data, there is high superposition of characters with the other possible species, *S. indicum* and *S. irregularis*. The karyological information found and supported by the literature suggests that the studied material is a new chromosomal race of *S. leibleinii*. However, more detailed studies must be conducted to reach a more confident conclusion about this possibility.

The study about the growth conditions revealed that *S. leibleinii* presents fast development under low concentrations of nitrogen and phosphorus, but the best development occurred under relatively high concentrations of the studied nutrients. It was also observed a significant growth under high concentrations of both nutrients.

Conditions of environmental stress initially promoted fast growth in this species, possibly accompanied of intense reproduction. The species *S. leibleinii* was more sensitive to low concentrations of NO_3 than to low concentrations of PO_4 , indicating the nitrogen as limiting nutrient of the growth in culture.

The morphometrical and ecological amplitude observed in *S. leibleinii* enable this alga to adapt to the environmental conditions that are not usually tolerated by other algal species. In despite of the better environmental evaluation shall be conducted by the community consideration and not on a single organism, *S. leibleinii* can be considered an important indicator species of high levels of organic nutrients in continental waters of tropical environments.