



MARINHA DO BRASIL
INSTITUTO DE ESTUDOS DO MAR ALMIRANTE PAULO MOREIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
PROGRAMA ASSOCIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MARINHA

ISABEL CRISTINA CUNHA FERREIRA

**Caracterização da população de *Sargassum furcatum* e seus epibiontes do
banco da Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ: sazonalidade e
propriedades antibacterianas.**

Arraial do Cabo/RJ
2018

ISABEL CRISTINA CUNHA FERREIRA

Caracterização da população de *Sargassum furcatum* e seus epibiontes do banco da Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ: sazonalidade e propriedades antibacterianas.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e a Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia Marinha.

Orientadora: Dra. Maria H. C. Baeta Neves
Co-orientadora: Dra. Luciana V. R. de Messano

Arraial do Cabo/RJ

2018

ISABEL CRISTINA CUNHA FERREIRA

Caracterização da população de *Sargassum furcatum* e seus epibiontes do banco da Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ: sazonalidade e propriedades antibacterianas.

Dissertação apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e à Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Marinha.

COMISSÃO JULGADORA:

Dr. José Eduardo Arruda Gonçalves (Membro externo)
Universidade Estácio de Sá

Ricardo Coutinho PhD (Membro interno)
IEAPM/PPGBM

Dra. Maria Helena Campos Baeta Neves (Orientadora)
IEAPM/PPGBM

Dra. Luciana Altvater (suplente)
FUNDEP/IEAPM

Arraial do Cabo, 28 de setembro de 2018

**Dedico este trabalho à minha mãe e às minhas tias
pela confiança depositada em mim, apoio e amor
essenciais em todos os momentos.**

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Dra. Maria Helena, pela confiança depositada em mim, e por compartilhar comigo seus conhecimentos e experiências, além de sempre se colocar disponível e sanar minhas dúvidas sem medir esforços.

A minha co-orientadora, Dra. Luciana Messano, por ter acreditado em mim, pela paciência e compreensão nas minhas dificuldades, por se dispor a me ensinar tanto e por todo tempo dispensado a mim desde o processo seletivo.

Ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira, pela infraestrutura fornecida para o desenvolvimento do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha e ao Coordenador do curso, Dr. Ricardo Coutinho, por nos proporcionar um curso de alto nível.

Ao Departamento de Química e Geologia Marinha do IEAPM por fornecer os dados abióticos e disponibilizar estrutura e pessoal para me auxiliar nas extrações.

A todos os integrantes do Departamento de Biotecnologia Marinha pela amizade e por contribuírem de alguma forma para a realização deste trabalho.

A minha família, pelo apoio, carinho, torcida e incentivo.

A Dra. María Soledad por plantar a sementinha da pesquisa em mim lá atrás.

A Ana Polycarpa, por me ensinar toda metodologia dos experimentos, sempre paciente, disponível e solícita.

Ao Dr. Júlio Monteiro, pela amizade, acolhimento, disponibilidade de material e identificação dos moluscos. Sempre presente em todos os momentos.

Ao técnico Fabián Messano por coletar o material e sempre se dispor a ajudar.

A Géssica Lima, ao Dr. Alexandre Kassuga, ao Diego Seda e a Dra. Luciana Altvater, pela amizade e ajuda com a identificação do material.

Ao Wladimir, amigo e irmão para sempre, que me acompanhou, apoiou e ajudou muito em todas as fases dessa empreitada.

Aos amigos que a pós graduação me proporcionou. Muito amor, carinho e gratidão a todos vocês.

A Virginia, pela parceria infinita na vida em todos os sentidos.

Aos amigos Fe, Bebele, Ana, Pati, Ramon, Augusto, Lila, Lucília, Yury e Nara por todo apoio e positividade sempre.

RESUMO

As macroalgas constituem um habitat bastante favorável à formação de comunidade acompanhante e produzem uma gama de moléculas que podem ser utilizadas na área biomédica, cosmética, indústria alimentar e farmacêutica, o que faz destes organismos marinhos um alvo de estudo muito interessante em termos biotecnológicos. O gênero *Sargassum* está entre as macroalgas marinhas mais ricas em termos de comunidade acompanhante. Além disso, este gênero está entre os detentores de compostos antioxidantes, antibacterianos, antitumorais, antimaláricos, anti-herbivoria e propriedades anti-incrustantes. Considerando a importante relação entre os bancos de algas e a comunidade epibionte, além da importância das algas no campo da biotecnologia marinha, o presente estudo visou a ampliação do conhecimento da espécie *S. furcatum* e seus epibiontes, caracterizando as espécies em termos ecológicos no que diz respeito a seus parâmetros populacionais e sua comunidade acompanhante, bem como as propriedades antibacterianas de *S. furcatum* e a influência de seus epibiontes sobre bactérias marinhas atuantes no processo de bioincrustação. O presente estudo mostrou o primeiro crescimento do banco após cinco anos de colapso. Os resultados indicaram que no verão de 2015, o banco de *S. furcatum* voltou a apresentar um crescimento e aumento de biomassa significativo e que suas epífitas acompanharam o padrão de crescimento e senescência do banco. Em termos de atividade antibacteriana, o presente estudo mostrou que os extratos brutos de *S. furcatum* nos diferentes solventes de extração testados (aquoso, etanol e diclorometano) apresentaram atividade inibitória. O epifitismo influenciou, de forma negativa, a ação dos extratos sobre as cepas de bactéria utilizadas. Este estudo mostrou que extratos não epifitados de *S. furcatum*, cujo solvente de extração utilizado seja diclorometano apresentaram maior poder inibitório sobre o crescimento bacteriano. Conhecendo o importante papel que o crescimento de bactérias e a formação do biofilme tem na fase inicial da bioincrustação, tal extrato deve possuir compostos bioativos antibacterianos promissores para a síntese de anti-incrustantes para o desenvolvimento de tintas a base de produtos naturais.

Palavras-chaves: Comunidade epibionte. Atividade antibacteriana. Bioincrustação.

ABSTRACT

Macroalgae constitute a favorable habitat for a rich and diverse associated community. They are able to produce a wide range of biomolecules with application in biomedicine, cosmetics, food, and pharmaceutical industries and because of those properties, these organisms have been studied for biotechnological applications. The genus *Sargassum* is one of the richest marine macroalgae regarding associated community. Furthermore, the algae of this genus have compounds with antioxidant, antitumoral, antimalarial, antiherbivore and antifouling properties. Considering the important relation between algal beds and epibiont community, as well as their importance to marine biotechnology research, the present study aimed to increase the knowledge about *Sargassum furcatum* (Kützing, 1843) and its epibionts. Population parameters and their associated fauna were studied. Moreover, we tested the antibacterial properties of *S. furcatum* and its epibionts on marine bacteria present in biofouling growth. The present study was performed after five years of a collapse in the seasonal growth of the bed. Our results indicated that in the summer of 2015, the *S. furcatum* bed showed a remarkable growth and biomass increase, followed by the growth of epiphytes until the senescence of the host algae, despite the years of negligible growth. In terms of antibacterial activity, the present study showed that the crude extracts of *S. furcatum* showed inhibitory activity using different extraction solvents (aqueous, ethanol and dichloromethane). Epiphytism influenced negatively the action of the extracts on the bacterial strains used. Our findings indicated that extracts of *S. furcatum* in dichloromethane (without epiphytes) showed superior inhibition on bacterial growth. Considering the important role of bacterial growth and the formation of the biofilm to the initial phase of biofouling, the extracts obtained from the algae might have promising antibacterial compounds that could be used for the development of a natural product-based antifouling paint.

Key-words: Epibiont community. Antibacterial activity. Biofouling.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
CAPÍTULO 1 <i>Sargassum furcatum</i> (KÜETZING, 1843) E SEUS EPIBIONTES NO ARENITO DA ILHA DE CABO FRIO, ARRAIAL DO CABO, RJ, BRASIL.	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVOS GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 HIPÓTESES	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 ÁREA DE ESTUDO	22
4.2 PARÂMETROS ABIÓTICOS	23
4.3 COLETA DAS AMOSTRAS	23
4.4 ANÁLISE EM LABORATÓRIO	24
4.5 ANÁLISE DOS DADOS	26
5 RESULTADOS	27
5.1 PARÂMETROS ABIÓTICOS	27
5.2 PARÂMETROS POPULACIONAIS	30
5.3 ANÁLISE DA COMUNIDADE EPÍFITA	33
5.3.1 ANÁLISE QUALITATIVA	33
5.3.2 ANÁLISE QUANTITATIVA	34
5.4 ANÁLISE DA COMUNIDADE VÁGIL	36
5.4.1 ANÁLISE QUALITATIVA	36
5.4.2 ANÁLISE QUANTITATIVA	37
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

CAPÍTULO 2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-BACTERIANA DE EXTRATOS DE <i>Sargassum furcatum</i> (KËTZING, 1843) E SUAS EPÍFITAS.	52
RESUMO	53
ABSTRACT	55
1 INTRODUÇÃO	57
2 OBJETIVOS	60
2.1 OBJETIVOS GERAL	60
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
3 HIPÓTESES	60
4 MATERIAL E MÉTODOS	61
4.1 COLETA DOS ORGANISMOS	61
4.2 TRATAMENTO DAS ALGAS	61
4.3 PREPARO DOS EXTRATOS	61
4.4 CRESCIMENTO BACTERIANO	62
4.5 TESTES DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	63
5 RESULTADOS	65
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
CONSIDERAÇÕES FINAIS	82

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Região de Arraial do Cabo, RJ.	22
Figura 2. Banco sazonal de <i>Sargassum furcatum</i> , Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ.	23
Figura 3. Esquema demonstrativo da obtenção dos dados do volume de canópia.	25
Figura 4. Temperatura, pH e salinidade ao longo do estudo no banco de <i>S.furcatum</i> na Ilha de Cabo Frio.	27
Figura 5. Média e desvio mensal de fosfato ao longo do estudo no banco de <i>S.furcatum</i> na Ilha de Cabo Frio.	28
Figura 6. Média e desvio mensal de nitrito, nitrato e amônia ao longo do estudo no banco de <i>S.furcatum</i> na Ilha de Cabo Frio.	29
Figura 7. Média e desvio mensal de pigmentos ao longo do estudo no banco de <i>S.furcatum</i> na Ilha de Cabo Frio.	30
Figura 8. Média e desvio mensal da biomassa dos indivíduos de <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	31
Figura 9. Média e desvio mensal da altura dos indivíduos de <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	31
Figura 10. Média e desvio mensal da largura dos indivíduos de <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	32
Figura 11. Média e desvio mensal do volume intersticial dos indivíduos de <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	33
Figura 12. Média e desvio mensal da biomassa da comunidade epífita de <i>S. furcatum</i> no banco na Ilha de Cabo Frio.	34
Figura 13. Média e desvio mensal da densidade de crustáceos associados a <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	38
Figura 14. Média e desvio mensal da densidade de moluscos associados a <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	39
Figura 15. Média e desvio mensal da densidade de poliquetas associadas a <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	39
Figura 16. Média e desvio mensal da densidade de anêmonas associadas a <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	40

Figura 17. Média e desvio mensal da densidade de invertebrados menos abundantes associados a <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	41
Figura 18. Análise não-métrica de escalonamento multidimensional <i>n</i> MDS.	41
Figura 19. Ilustração da disposição das soluções na placa de 96 poços.	64
Figura 20. Percentual de inibição (%) dos extratos de etanol com (A) e sem (B) epífitas sobre as bactérias.	68
Figura 21. Percentual de inibição (%) dos extratos aquosos com (A) e sem (B) epífitas sobre as bactérias.	70
Figura 22. Percentual de inibição (%) dos extratos de diclorometano com (A) e sem (B) epífitas sobre as bactérias.	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Hidrozoários epibiontes de <i>S. furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	33
Tabela 2. Espécies de algas epífitas de <i>S.furcatum</i> no banco da Ilha de Cabo Frio.	34
Tabela 3. Peso úmido e percentual para estimativa da biomassa total da comunidade epífita a <i>S. furcatum</i> .	35
Tabela 4. Moluscos associados a <i>S.furcatum</i> . no banco da Ilha de Cabo Frio.	37
Tabela 5. Massa e rendimento dos extratos brutos.	65
Tabela 6 Percentual de inibição durante o crescimento bacteriano.	66
Tabela 7. Percentual médio de inibição sobre as bactérias.	67
Tabela 8. Percentual médio de inibição dos extratos de etanol sobre as espécies bacterianas.	67
Tabela 9. Percentual médio de inibição dos extratos aquosos sobre as espécies bacterianas.	69
Tabela 10. Percentual médio de inibição dos extratos de diclorometano sobre as espécies bacterianas.	71

INTRODUÇÃO GERAL

As algas macroscópicas são vegetais que apresentam hábito de vida, geralmente, bentônico. Elas são divididas em três filos: Rhodophyta (algas vermelhas), Chlorophyta (algas verdes) e Ochrophyta (algas pardas). Algas são organismos fotossintetizantes, cujo pigmento principal é a clorofila "a". Tanto microalgas quanto macroalgas, que são visíveis a olho nu, constituem os principais organismos autotróficos em ecossistemas aquáticos (Azevedo & Nauer, 2012).

Nos ambientes marinhos, as macroalgas se mostram importantes por contribuírem na produtividade primária e na estrutura física do local onde vivem (Oliveira Filho, 2002; Schiel & Foster, 2006). São encontradas em águas costeiras e em regiões tropicais, temperadas e polares (Santelices, 2007). Constituem um habitat bastante favorável à formação de comunidade acompanhante, já que podem servir de habitat para sésseis e vágeis, permanentes ou temporários, respectivamente (Barreto, 1999).

As macroalgas pardas (Ocrófitas) costumam colonizar a região infralitoral e áreas com maior profundidade, porém, necessitam de grande intensidade de luz solar para realizar a fotossíntese (Correia, 2005). Variam de tamanho, desde formas microscópicas até as maiores algas marinhas conhecidas, denominadas kelps, cujos compostos são utilizados como estabilizantes e emulsificantes de alguns alimentos e tintas e na preparação de pomadas e suspensões (Vidotti & Rollemberg, 2004).

De um modo geral, as ocrófitas atraem diversos invertebrados e abrigam uma comunidade bem diversa (Jacobucci & Leite, 2002). O gênero *Sargassum* é considerado, dentre as algas pardas Fucales, o que apresenta morfologia mais complexa e está entre as macroalgas marinhas mais ricas em termos de comunidade acompanhante (Cacabelos *et al.*, 2010; Széchy & Paula, 1997). Possuem aproximadamente 350 espécies catalogadas (Guiry, 2015), com ampla distribuição e ocorrem em regiões tropicais, subtropicais e temperadas de ambos hemisférios (Velooso & Széchy, 2008), destacando-se na flora bentônica de regiões tropicais e sub tropicais quanto à biomassa e cobertura. Também apresentam complexa morfologia (Széchy, 1996) e são fortes competidoras (Norton, 1977). Abundante no litoral brasileiro, tal gênero possui ampla distribuição e representativa biomassa no sudeste do país (Széchy, 1996). É representado por onze espécies (Paula & Eston, 1987), seis destas são encontradas no Rio de Janeiro (Széchy &

Cordeiro-Marino, 1991).

Em Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, o gênero *Sargassum* é encontrado desde a zona entremarés até o infralitoral (Yoneshigue, 1985). Nessa localidade ocorre o fenômeno da ressurgência que causa variação da temperatura média da água entre 13 e 24° C (Valentin, 1994) e provoca aumento da produtividade local (Yoneshigue, 1985). A espécie *Sargassum furcatum*, em Arraial do Cabo, desenvolve uma considerável biomassa na primavera e no verão e serve de substrato, alimento e refúgio para diversos organismos como crustáceos, moluscos, peixes, esponjas e algas (Leite & Turra, 2003; Cacabelos et al., 2010).

As algas produzem uma gama de moléculas que podem ser utilizadas na área biomédica, cosmética, indústria alimentar e farmacêutica, o que faz destes organismos marinhos um alvo de estudo muito interessante em termos biotecnológicos (Barsanti & Gualtieri, 2006), pois são fonte dos mais variados metabólitos secundários (Plaza et al., 2010). Muitas macroalgas também são uma fonte rica de produtos naturais bioativos que apresentam propriedades antibacterianas, antialgais, antifúngicas, antiprotozoários e anti-incrustantes (Bhadury & Wright, 2004). No caso das propriedades anti-incrustantes, muitas são capazes de produzir compostos que agem como sinais químicos que podem influenciar positivamente ou negativamente o estabelecimento de outros organismos, sejam algas ou invertebrados (Walters et al., 1996).

Por outro lado, as algas pardas constituem o grupo taxonômico mais conhecido em termos de produtos naturais, sendo caracterizado pela presença de polifenóis e hidrocarbonetos voláteis e por seus esteróis e carotenóides (Teixeira, 2002). Alginatos, componentes estruturais desse grupo, são de grande valia, pois são utilizados em alimentos, na indústria farmacêutica e em processos industriais (Moe et al., 1995) apresentando muitas aplicações biomédicas e biotecnológicas.

Considerando a importante relação entre os bancos de algas e a comunidade epibionte, além da importância das algas no campo da biotecnologia marinha, o presente estudo visa a ampliação do conhecimento da espécie *S. furcatum* e seus epibiontes, caracterizando as espécies em termos ecológicos, no Capítulo 1, e suas propriedades antibacterianas, no Capítulo 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, C. & NAUER, F. Biodiversidade e ecologia de Macroalgas Marinhas Brasileiras. In: RIGHI, A. A. Botânica no Inverno. São Paulo : Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 183 p. 2012.
- BARRETO, C.C. Heterogeneidade espacial do habitat e diversidade específica: implicações ecológicas e métodos de mensuração. *Oecol. Bras.*, v. 7, n. 1, p. 121–153. 1999.
- BARSANTI, L. & GUALTIERI, P. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. *J Phycol* 43:412–414.2006.
- BHADURY, P. & WRIGHT, P.C. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta* 219:561-578. 2004
- CACABELOS, E.; OLABARRIA, C; INCERA, M. & TRONCOSO, J. S. Effects of habitat structure and tidal height on epifaunal assemblages associated with macroalgae. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 89: 43–52, 2010.
- CORREIA, M.D. & SOVIERZOSKI, H.H. Ecosistemas Marinhos: recifes, praias e manguezais. In: *Conversando sobre ciências em Alagoas*. 1. ed. Maceió: Ed. UFAL, v. 1, p. 0-55. 2005.
- GUIRY, G.M. Algae Base. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2015. Disponível em: <http://www.algaebase.org>. Acessado em: 16 de maio de 2018.
- JACOBUCCI, G. B. & LEITE, F. P. P. Distribuição vertical e flutuação sazonal da macrofauna vágil associada à *Sargassum cymosum* C. Agardh, na Praia do Lázaro, Ubatuba, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(1): 87-100, 2002.
- LEITE, F. P. P. & TURRA, A. Temporal variation in *Sargassum* epiphytism and associated fauna biomass. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(4): 665–671, 2003.
- MOE, S.T.; DRAGET, K.I.; SKJAK-BRAEK, G. & SMIDSRØD, O. Alginates. In: A.M. Stephen (Ed.), *Food Polysaccharides* (pp. 245-286). Nova York: Maree Dekker, Inc. 1995.
- NORTON, T.A. The growth and development of *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *J. exp. mar. Biol. Ecol. Amsterdam*, v. 26, p.41-53. 1977.
- OLIVEIRA FILHO, E.C. Macroalgas Marinhas da Costa Brasileira - Estado do Conhecimento, Uso e Conservação Biológica. Pp. 122-126. In: Araújo, E.L.; Moura, A.N.; Sampaio, E.S.B.; Gestinari, L.M.S. & Carneiro, J.M.T. (ed.). *Biodiversidade Conservação e uso Sustentável da Flora do Brasil*. Recife, UFRPE/Imprensa Universitária. 2002.
- PAULA, E. J. & ESTON, V. R. Are the other *Sargassum* species potentially as

invasive as *S. muticum*? *Botanica Marina*, 30: 405–410. 1987.

PLAZA, M.; SANTOYO, S.; JAIME, L., GARCÍA-BLAIRSY, R. G.; HERRERO, M., SEÑORÁNS, F.J. & IBÁÑEZ, E. Screening for bioactive compounds from algae. *J Pharm Biomed Anal* 51:450–5. 2010.

SANTELICES, B. The discovery of kelps forest in deep-water habitats of tropical regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 49(104), 19163-19164. 2007.

SCHIEL, D.R. & FOSTER, M.S. The Population Biology of Large Brown Seaweeds: Ecological Consequences of Multiphase Life Histories in Dynamic Coastal Environments. *Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37:343–72. 2006.

SZÉCHY, M.T.M. Estrutura de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta-Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Tese de doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 1996.

SZÉCHY, M.T.M. & CORDEIRO-MARINO, M. Feofíceas do litoral norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Hoehnea*, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 253-267. 1991.

SZÉCHY, M.T.M. & PAULA, E.J. Macroalgas epífitas em *Sargassum* (Phaeophyta-Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Leandra* 12:1-10. 1997.

TEIXEIRA, V.L. Produtos Naturais Marinhos. In: PEREIRA, R.C.; SOARES-GOMES, A. *Biologia Marinha*. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009. p. 443-471. 2009.

VALENTIN, J. L. Ressurgência: fonte de vida dos oceanos. *Ciência Hoje*, 18(102):9-25. 1994.

VELOSO, A. P. A. & SZÉCHY, M. T. D. Variações espaciais e temporais no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da macroalga *Sargassum* C. Agardh (Fucales, Phaeophyceae). Síntese do conhecimento. *Oecologia Brasiliensis*, 12(2): 275–290, 2008.

VIDOTTI, E. C. & ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. *Química Nova*, v. 27 (1), p. 139-145, 2004.

WALTERS, L.J.; HADFIELD, M.G. & SMITH, C.M. Waterborne chemical compounds in tropical macroalgae: positive and negative cues for larval settlement. *Mar Biol* 126: 383-393. 1996.

YONESHIGE, Y. Taxonomie et ecologie des algues marines dans la région de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Brésil). Marseille Tese (Doutorado em Ciências) - Faculté des Sciences de Luminy, Université d'Aix-Marseille II, 454pp. 1985.

CAPÍTULO 1

***Sargassum furcatum* (Kützting, 1843) e seus epibiontes no arenito da Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ, Brasil.**

RESUMO

O gênero *Sargassum* está entre as macroalgas marinhas mais ricas em termos de comunidade acompanhante. Em Arraial do Cabo, RJ, tal gênero desenvolve uma considerável biomassa na primavera e no verão, especialmente na Ilha do Cabo Frio, onde um extenso banco sazonal de *Sargassum furcatum* pode ser encontrado sobre uma formação de arenito. Tendo em vista a importante relação entre os bancos de algas e a comunidade epibionte, este estudo visa a caracterização dos parâmetros populacionais da espécie *S. furcatum* e seus epibiontes. Exemplares de *S. furcatum* foram coletados de dezembro de 2014 a abril de 2015. Para estimar os parâmetros populacionais de *S.furcatum* foram obtidos dados de biomassa, altura, largura e volume intersticial. A comunidade acompanhante foi retirada e analisada. Dados abióticos foram coletados. O banco de *S. furcatum* apresentou desenvolvimento sazonal no verão de 2015, como já observado anteriormente, embora tenha havido um colapso e por pelo menos cinco anos, este não apresentou biomassa significativa no verão. A população aumentou seu crescimento e biomassa, a partir do mês de dezembro atingindo seu ápice em fevereiro e março e entrou na senescência no mês de abril corroborando a hipótese de que o crescimento de *S.furcatum* varia ao longo dos meses de primavera/verão. Nitrato e fosfato foram os nutrientes que estiveram relacionados ao crescimento da alga. A biomassa de epífitas acompanhou o padrão de desenvolvimento da planta-hospedeira, com maiores valores em fevereiro e março. Os principais grupos de epibiontes foram algas, hidrozoários e briozoários e sua biomassa total atingiu o ápice no máximo de desenvolvimento do banco de *S. furcatum* no mês de março. A fauna vágil foi composta principalmente por crustáceos anfípodas e moluscos. O material analisado neste trabalho foi coletado no primeiro crescimento do banco após os anos de colapso no crescimento sazonal, indicando a alta resiliência e resistência do banco e da comunidade associada.

Palavras-chave: Banco sazonal. Comunidade epífita. Fauna vágil.

ABSTRACT

The brown algae of the genus *Sargassum* are among the richest marine macroalgae in terms of associated community. At Arraial do Cabo, RJ, the genus *Sargassum* develops a considerable biomass in the summer, especially at the Cabo Frio Island, where an extensive seasonal bed of *Sargassum furcatum* grows on a sandstone formation. As the relationship between algal beds and the epibiont community is important, this study aims to characterize the population parameters of *S. furcatum* and its epibionts. Specimens of *S. furcatum* were collected between December 2014 and April 2015. Data of biomass, height, width and interstitial volume were obtained to estimate the population parameters of *S. furcatum*. Epiphytes and mobile fauna were removed. Abiotic data were obtained during the sampling period. The *S. furcatum* bed showed seasonal development in the summer of 2015, as already observed, although in the previous five years it did not show significant biomass in the summer. The population increased its growth and biomass from December reaching the maximum in February and March and entered senescence in April, corroborating the hypothesis that the growth of *S.furcatum* varies during the spring/summer months. Nitrate and phosphate were the nutrients that may be they were related to algae growth. The epiphytic biomass followed the plant-host development pattern, with higher values in February and March. The main groups of epibionts were algae, hydrozoans, and bryozoans. The highest total biomass was observed in March, when the *S. furcatum* bed showed the maximum growth. The mobile fauna was composed mainly by amphipods and mollusks. The material that was analyzed in this study was collected after the years of collapse in the seasonal growth of the bed, demonstrating a high resilience and resistance of the community.

Key-words: Seasonal bed. Epiphytes. Associated Community.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Sargassum* está entre as macroalgas mais abundantes ao longo do sudeste do litoral brasileiro podendo formar densos bancos (Paula & Eston, 1987). Na praia do Farol, Ilha de Cabo Frio, desde a linha d'água até uma profundidade de 3 a 5 m, pode ser encontrada uma formação de arenito, afloramento geológico normalmente formado por grãos quartzosos consolidados por cimento carbonático (Savi *et al.*, 2005). Durante a primavera e o verão, principalmente, o arenito é recoberto por um extenso banco sazonal da macroalga *Sargassum furcatum* (Gonçalves, 1999). Devido à grande biomassa e tamanho que esta alga pode atingir durante os meses de verão, ela hospeda diversos outros organismos (invertebrados, algas e peixes), como local de fixação, abrigo ou alimentação (Ornellas & Coutinho, 1998; Nogueira- Júnior, 2004; Messano & Coutinho, 2006).

As macroalgas e suas epífitas, como produtoras primárias, fornecem matéria e energia tanto aos organismos consumidores residentes como aos não-residentes (Ruitton *et al.*, 2000). Tais organismos podem ser vertebrados, tais como peixes, e invertebrados, como poliquetas, picnogonídeos, moluscos e crustáceos. Esses dois últimos são os grupos vágeis comumente mais abundantes no fital de macroalgas marinhas, portanto os mais estudados (Ferreira *et al.*, 2001; Chemello & Milazzo 2002; Tanaka & Leite, 2003).

As características de um substrato biológico desempenham um papel primário na distribuição da fauna e da flora associadas (Hacker & Steneck, 1990; Martin-Smith, 1993). A complexidade de uma alga hospedeira se reflete na estrutura da comunidade associada (Leite & Turra, 2003). O termo complexidade estrutural é relacionado ao tamanho, área superficial, número e disposição de ramificações, biomassa, volume e estado fenológico (Hull, 1997; Lima, 2002). Macrófitas podem favorecer a formação de microhabitats que permitem o assentamento larval (Walters & Wethey, 1996; Bourget *et al.*, 1994) e servir de refúgio contra predação (Stachowicz & Lindquist, 1997).

Entre os fatores bióticos que influenciam a fauna fital, a sazonalidade dos ciclos reprodutivos e a complexidade e/ou arquitetura da alga hospedeira são ditos como responsáveis pela abundância e composição da fauna associada (Jacobi & Langevin, 1996; Crowe & Underwood, 1998). Predação (Ornellas, 1998), epifitismo (Bergey *et al.*, 1995), alta mobilidade, padrões de migração (Lawrie & Raffaelli,

1998), tamanho da comunidade da alga (Orths *et al.*, 1984) e competição (Boadem *et al.*, 1975) podem explicar as variações temporais.

Sabe-se que a alga aumenta a complexidade física do habitat e afeta positivamente a riqueza e abundância de espécies (Kovalenko *et al.*, 2012). Algas epífitas e outros organismos sésseis como esponjas, hidrozoários e briozoários aumentam a complexidade da alga (Leite & Turra, 2003). Assim, influenciam na abundância e na diversidade da fauna vágil, pois retém sedimento e matéria orgânica, servindo como alimento para herbívoros e aumentando a proteção contra predadores (Martin-Smith, 1993; Jarvis & Seed, 1996).

No que diz respeito aos fatores abióticos que interferem na estrutura da fauna fital de macroalgas, a temperatura e a salinidade (Hicks, 1986) são os que alteram os estágios de crescimento e, logo, o tamanho da alga hospedeira (Strauss, 1991), além do grau de sedimentação, da profundidade e da turbidez da água que podem contribuir para diferenças temporais na comunidade fital (Takeuchi *et al.*, 1987).

Considerados ótimos descritores de ecossistemas, as comunidades associadas a algas são amplamente utilizadas para caracterizar e monitorar os ecossistemas aquáticos, através de dados de composição de espécies e abundância (Mannino, 2010). No entanto, poucos estudos analisam a ecologia das comunidades de epífitas. Tais organismos são componentes importantes das comunidades marinhas e sua ocorrência é relacionada a complexas interações entre a hospedeira e as epífitas (Levin & Mathieson, 1991).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os parâmetros populacionais do banco de *S. furcatum* e seus epibiontes no arenito da Ilha de Cabo Frio, através da análise quali-quantitativa da comunidade associada em um ciclo sazonal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar os parâmetros populacionais relacionados ao crescimento de *S. furcatum* no arenito da Ilha de Cabo Frio.

Caracterizar quali-quantitativamente as espécies de epibiontes na população de *S.furcatum* no arenito da Ilha de Cabo Frio.

Descrever e comparar a variação temporal da comunidade associada à *S. furcatum* no arenito da Ilha de Cabo Frio durante o verão 2014/2015.

3 HIPÓTESES

H0: O crescimento do banco de *S. furcatum* da Ilha do Cabo Frio não varia ao longo dos meses de primavera/verão, após cinco anos sem desenvolver biomassa significativa.

H1: O crescimento do banco de *S. furcatum* da Ilha do Cabo Frio varia ao longo dos meses de primavera/verão, após cinco anos sem desenvolver biomassa significativa.

H0: A comunidade associada a *S. furcatum* não varia ao longo dos meses de verão no banco formado no arenito da Ilha do Cabo Frio.

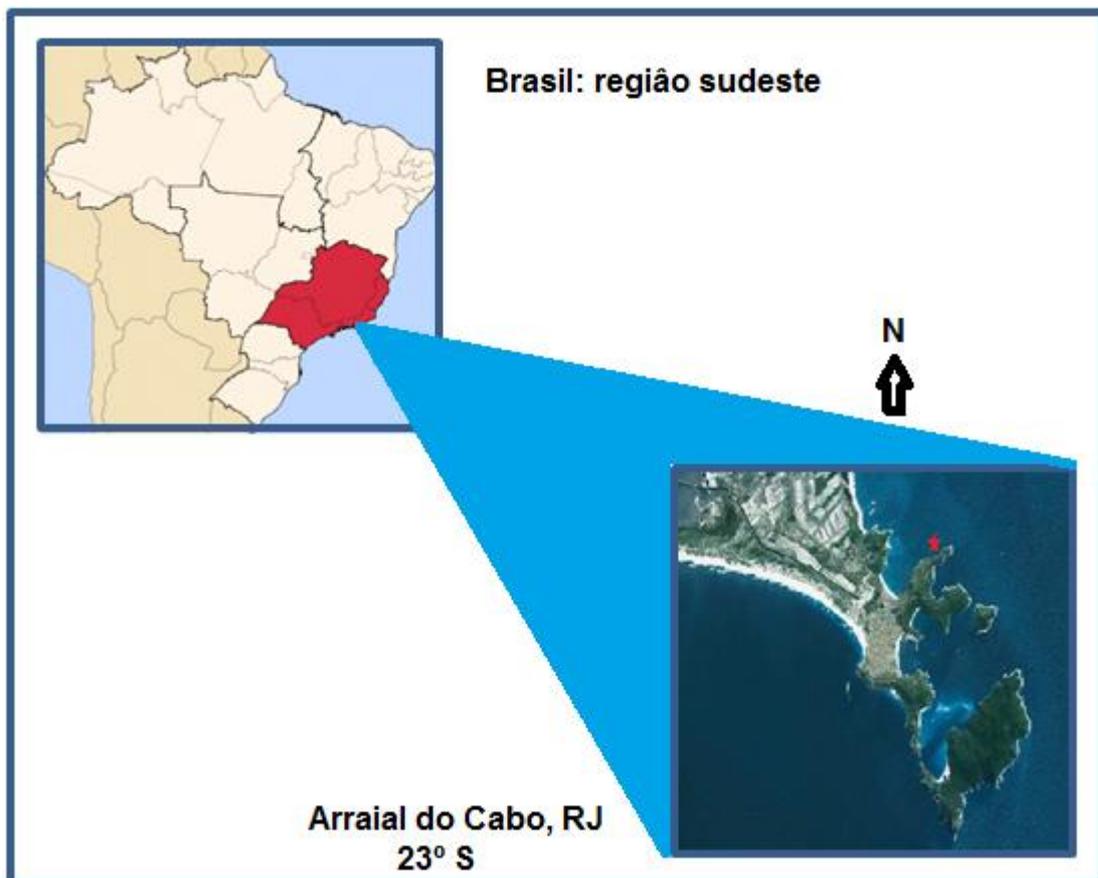
H1: A comunidade associada a *S. furcatum* varia ao longo dos meses de verão no banco formado no arenito da Ilha do Cabo Frio.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado em Arraial do Cabo, no Rio de Janeiro. A região caracteriza-se por uma península irregular com praias, costões rochosos e ilhas (Candella, 2009) (Figura 1).

Figura 1. Região de Arraial do Cabo, RJ.



Fonte: Google Earth

A região centro-sul da costa brasileira, onde se localiza Arraial do Cabo, é influenciada pelo fenômeno da ressurgência caracterizado pelo afloramento de águas profundas, frias e ricas em nutrientes provenientes da corrente do Atlântico Sul. Tal fenômeno enriquece a biota marinha com espécies típicas de águas frias que se encontram em altas profundidades (Valentin, 1994).

O ponto de coleta foi o arenito localizado em frente a praia da Ilha do Cabo Frio, onde há presença de um banco sazonal de *S. furcatum* que, geralmente, durante a primavera e o verão, desenvolve uma biomassa bastante significativa

(Gonçalves, 1999) (Figura 2).

Figura 2. Banco sazonal de *S.furcatum*,
Ilha do Cabo Frio, Arraial do cabo, RJ.



Fonte: Google Earth

4.2 PARÂMETROS ABIÓTICOS

Foram coletados semanalmente dados abióticos durante o período de coleta na região da Praia do Farol, na Ilha do Cabo Frio. Foram mensurados os parâmetros: temperatura da água, com um termômetro de mercúrio, pH, salinidade, com um condutímetro, nutrientes e pigmentos. Todas as análises foram realizadas pelo Departamento de Química e Geologia Marinha do IEAPM. Vale ressaltar que não foram coletados dados de pigmentos no mês de dezembro.

4.3 COLETA DAS AMOSTRAS

Foram coletados, mensalmente, no período de dezembro de 2014 a abril de 2015, 10 exemplares da espécie *S. furcatum*, aleatoriamente, no banco formado na Ilha do Cabo Frio.

O total de 50 exemplares foram extraídos manualmente por meio de mergulho autônomo, manualmente a partir do apressório e colocadas em sacos herméticos para serem levadas até o laboratório, onde foram fixadas e conservadas em solução

de formol a 10% para posterior análise.

4.4 ANÁLISE EM LABORATÓRIO

Para estimar os parâmetros populacionais de *S.furcatum* foram obtidos os seguintes dados de metade dos exemplares amostrados (n=25): biomassa, altura, largura e volume intersticial a cada mês de coleta das plantas.

A fim de se obter volume intersticial, biomassa, altura e largura, cada macroalga, foi lavada em água corrente para a retirada de detritos e deixada sobre papel absorvente, para a retirada do excesso de água. Em seguida, as algas foram medidas com régua graduada quanto a altura e largura. As algas, então, foram secas ao ar e à sombra em temperatura ambiente em torno de 24° C por 24 horas, e depois pesadas (**peso seco**) para obtenção dos valores de biomassa. As pesagens foram feitas em balança de precisão com três casas decimais.

O volume intersticial, definido como espaço físico real formado pela alga, foi obtido através da subtração entre o volume de canopia e o volume deslocado através das fórmulas:

$$VI = VC - VD$$

onde,

VI: volume intersticial

VC: volume de canópia

VD: volume deslocado

O volume deslocado por cada alga foi medido através do volume ocupado da alga a partir de sua imersão em uma proveta. A partir da multiplicação dos dados de altura, largura e comprimento de cada exemplar de *S. furcatum* foi obtido o volume de canopia através da fórmula:

$$VC = C \times L \times h$$

onde,

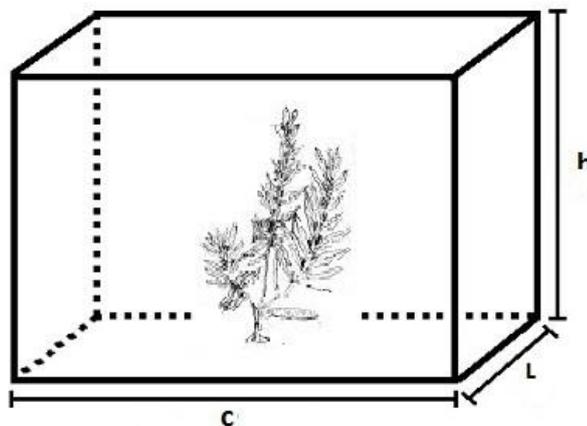
C: comprimento

L: largura

h: altura

Os dados para calcular o volume de canópia foram obtidos colocando a alga em um aquário de forma ereta, com seu apressório voltado para o fundo e preso por um peso de chumbo. Com a alga estabilizada foram medidas: sua altura máxima do talo (da base do apressório ao ápice do maior ramo lateral primário), comprimento máximo e largura máxima, com auxílio de régua graduada (Hacker & Steneck, 1990) (Figura 3).

Figura 3. Esquema demonstrativo da obtenção dos dados do volume de canópia.



Para a análise qualitativa dos epibiontes, foram retiradas as epífitas da outra metade das amostras de *S. furcatum* ($n = 25$), com auxílio de pinça e/ou lâmina sob lupa e microscópio. A análise quantitativa dos organismos epífitos consistiu em pesar (**peso úmido**) os exemplares de algas hospedeiras antes e depois da retirada das epífitas em balança de precisão com três casas decimais a fim de se obter uma estimativa da biomassa total de epífitas. Após a pesagem, os epibiontes foram separados em grandes grupos taxonômicos para posterior identificação ao menor nível taxonômico possível para a análise qualitativa e obtenção da riqueza de espécies.

O conteúdo líquido inicial das amostras foi passado em peneira de 100 μm , a fim de reter a fauna associada vágil. Posteriormente, as algas foram lavadas em água corrente e passadas novamente pela peneira para nova triagem da fauna associada. Esse processo foi repetido pelo menos três vezes e a fauna vágil foi armazenada em formol a 10% para posterior análise.

A fauna vágil previamente triada e armazenada foi quantificada por contagem

em lupa para obter a densidade (nº de indivíduos/alga). Para a análise qualitativa, os invertebrados, primeiramente, foram separados em nível de grandes grupos taxonômicos e, posteriormente, foi feita a identificação ao menor nível taxonômico possível.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Foram realizadas análises de variância – ANOVA unifatorial para verificar se os parâmetros populacionais (biomassa, altura, largura e volume intersticial) variam significativamente ao longo do tempo; bem como os valores de biomassa de epífitas ao longo do tempo, durante o experimento. Em todas as análises foi utilizado um nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$). Para identificar essas diferenças foi aplicado o teste a posteriori de Tukey. Os testes estatísticos foram realizados através do programa GraphPad InStat3.

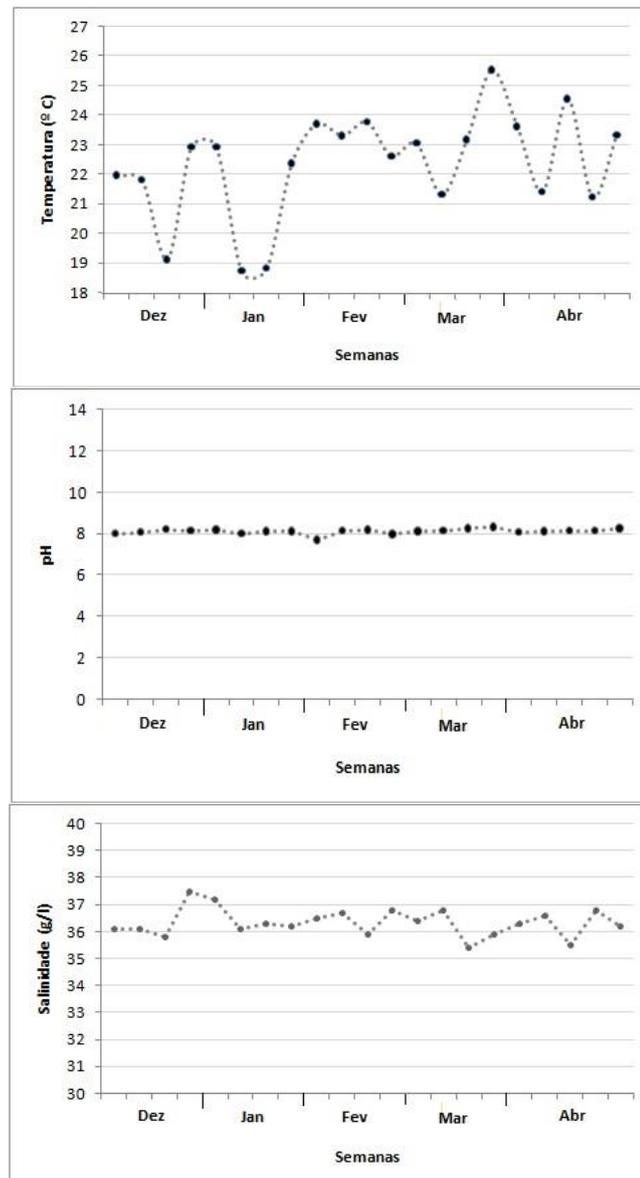
A fauna vágil foi explorada com a análise não-métrica de escalonamento multidimensional nMDS. Foi utilizada uma matriz de similaridade utilizando o índice de Bray-Curtis, a partir dos dados, e o teste estatístico ANOSIM para comparar a comunidade. Em geral, o valor do R global obtido no teste ANOSIM varia entre 0 e 1 indicando o grau de discriminação entre os grupos. O valor R observado é estatisticamente significativo se ele não pertence a essa distribuição aleatória e é próximo de 1. As análises (nMDS e ANOSIM) foram realizadas utilizando o programa PRIMER6.0.

5 RESULTADOS

5.1 PARÂMETROS ABIÓTICOS

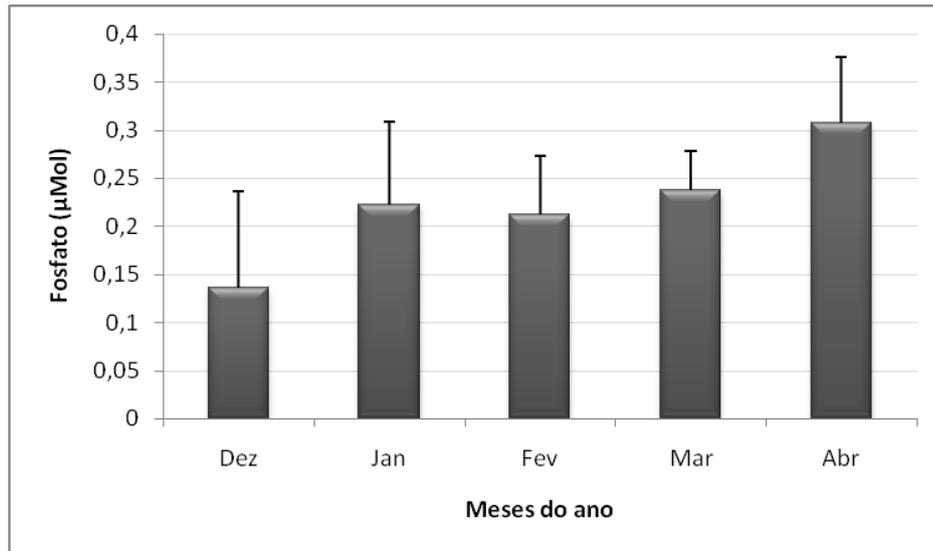
A temperatura média de fundo no banco de *S. furcatum* variou de 20,6 ° C (janeiro) a 23,3 ° C (fevereiro). A menor temperatura absoluta foi registrada em janeiro (18,7 ° C) e a maior em março (25,5 ° C). O pH variou, em média, 7,98 (fevereiro) a 8,19 (março). A salinidade média variou sempre em torno de 36. A menor salinidade foi registrada em março (35,4) e a maior, em dezembro (Figura 4).

Figura 4. Temperatura, pH e salinidade ao longo do estudo no banco de *S.furcatum* na Ilha de Cabo Frio.



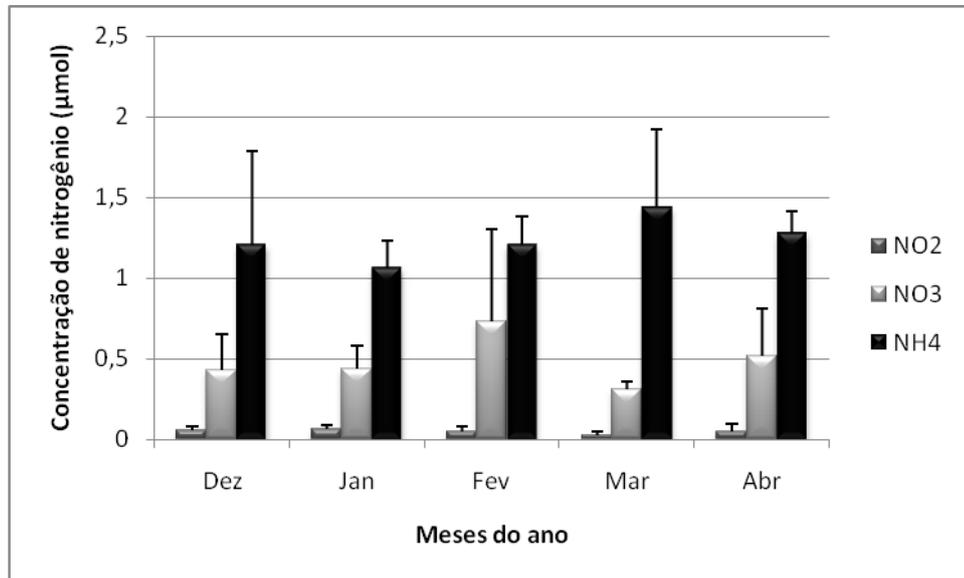
Quanto aos nutrientes, o fosfato (PO_4) variou de 0,09 μmol (dezembro) a 0,42 μmol (abril) em valores absolutos, apresentando maior média de 0,30 μmol (abril) e menor média de 0,13 μmol (dezembro) (Figura 5).

Figura 5. Média e desvio mensal de fosfato ao longo do estudo no banco de *S.furcatum* na Ilha de Cabo Frio.



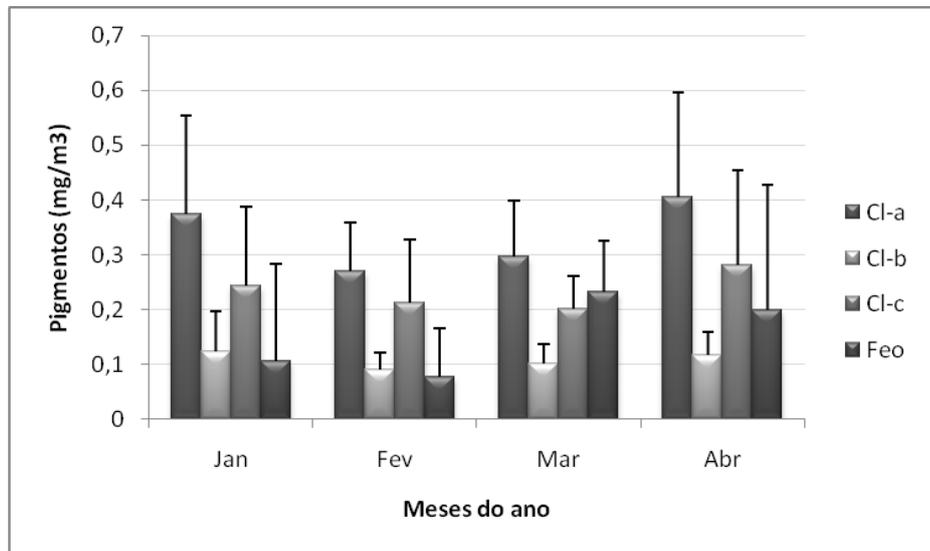
A concentração de nitrito (NO_2) variou de 0,00 μmol (março) a um máximo 0,13 μmol (abril) apresentando maior e menor média nos meses de janeiro e março, 0,06 μmol e 0,02 μmol , respectivamente. Nitrato (NO_3) variou de 0,09 μmol (abril) a 1,80 (fevereiro) em valores absolutos, com médias variando de 0,30 μmol (março) a 0,70 μmol (fevereiro). O nível de amônia (NH_4) apresentou mínima de 0,74 μmol (dezembro) e máxima de 2,10 μmol (março) e suas médias variaram de 1,00 μmol (janeiro) a 1,40 μmol (março) (Figura 6).

Figura 6. Média e desvio mensal de nitrito, nitrato e amônia ao longo do estudo no banco de *S.furcatum* na Ilha de Cabo Frio.



No que diz respeito aos pigmentos, a Clorofila a variou de 0,16 mg/m³ (janeiro) a 0,62 mg/m³ (abril) em valores absolutos, apresentando menor e maior média, em fevereiro e abril, 0,27 mg/m³ e 0,4 mg/m³, respectivamente. O Clorofila b apresentou mínimo de de 0,04 mg/m³ (fevereiro) e máximo de 0,21 mg/m³ (janeiro) apresentando menor média de 0,08 mg/m³, em fevereiro e maior média de 0,12 mg/m³ em janeiro. A Clorofila c variou de 0,06 mg/m³ (fevereiro) a 0,4 mg/m³ (janeiro) em valores absolutos, com médias menor e maior em março e abril, 0,2 mg/m³ e 0,28 mg/m³, respectivamente. O nível de Feofitina variou de 0,0 mg/m³ (janeiro e fevereiro) a um máximo de 0,56 mg/m³ (abril). Suas médias variaram entre 0,07 mg/m³ (fevereiro) e 0,23 mg/m³ (março) (Figura 7).

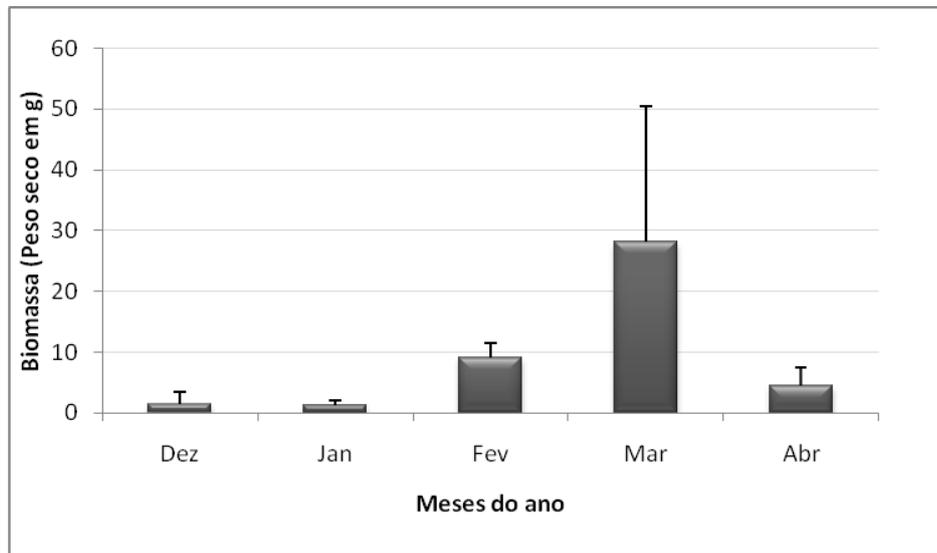
Figura 7. Média e desvio mensal de pigmentos ao longo do estudo no banco de *S.furcatum* na Ilha de Cabo Frio.



5.2 PARÂMETROS POPULACIONAIS

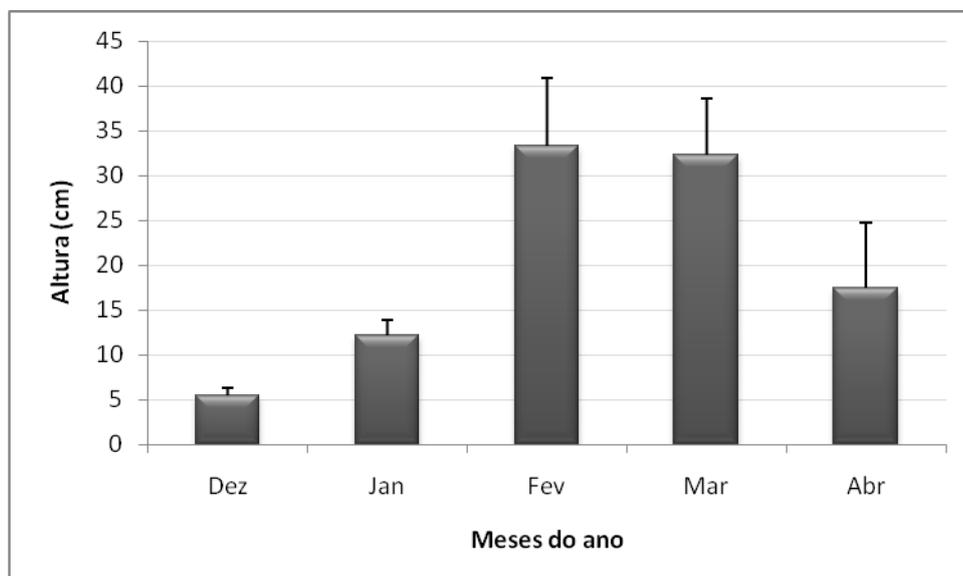
Os dados de biomassa (**peso seco**) dos indivíduos de *S. furcatum* mostraram maiores valores em março atingindo média de 28,2062 g, seguido pelos meses de fevereiro e abril com 9,0362 g e 4,5262 g em média, respectivamente. A menor biomassa foi verificada em janeiro com média de 1,3468 g (Figura 8). A análise de variância mostrou diferença significativa entre o mês de março e os meses de dezembro, janeiro e abril, mas não mostrou diferença significativa entre fevereiro e março ($p=0,0022$ e $F=6,109$).

Figura 8. Média e desvio mensal da biomassa dos indivíduos de *S.furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



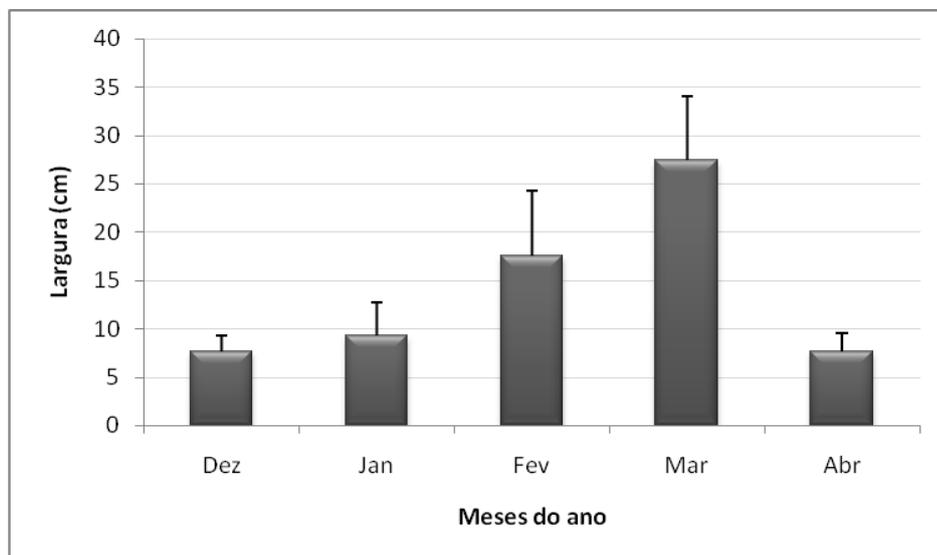
Plantas de maior altura foram observadas no mês de fevereiro com média de 33,25 cm, seguido pelos meses de março com média de 32,37 cm e abril com média de 17,50 cm. As plantas menores foram observadas em dezembro com média de 5,5 cm de altura (Figura 9). A análise de variância mostrou diferença significativa entre o mês de março e os meses de dezembro, janeiro e abril, mas não mostrou diferença significativa entre fevereiro e março ($p < 0,0001$ e $F = 23,57$).

Figura 9. Média e desvio mensal da altura dos indivíduos de *S.furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



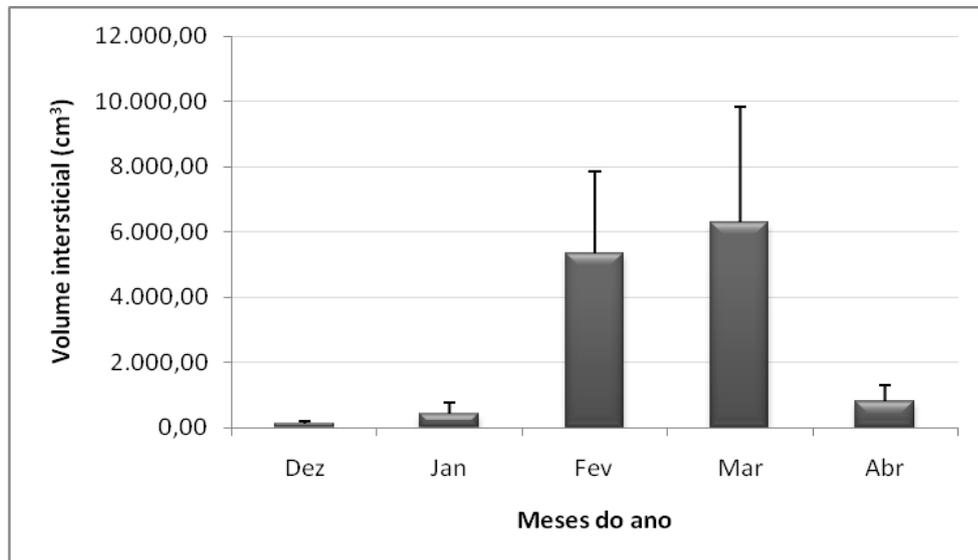
Quanto à largura das plantas, os maiores valores foram encontrados em março, com média de 27,5 cm, seguido pelos meses de fevereiro e janeiro com, respectivamente, 17,5 cm e 7,7cm de média (Figura 10). Os valores menores para largura da alga foram verificados no mês de dezembro com média de 7,6 cm. A análise de variância mostrou diferença significativa entre o mês de março e todos os outros meses ($p < 0,0001$ e $F = 17,100$).

Figura 10. Média e desvio mensal da largura dos indivíduos de *S.furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



O maior volume intersticial foi encontrado em março com média de 6275,5 cm^3 , seguido por fevereiro com 5340,5 cm^3 em média e abril com média de 793,7 cm^3 . O menor volume intersticial foi observado em dezembro com média de 133,5 cm^3 (Figura 11). A análise de variância mostrou diferença significativa entre o mês de março e os meses de dezembro, janeiro e abril, mas não mostrou diferença significativa em relação a fevereiro ($p < 0,0001$ e $F = 11,840$).

Figura 11. Média e desvio mensal do volume intersticial dos indivíduos de *S.furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



5.3 ANÁLISE DA COMUNIDADE EPÍFITA

5.3.1 Análise Qualitativa

Em relação a fauna incrustante foram encontrados oito espécies de hidrozoários (Tabela 1), poríferos e cirripédios não identificados e briozoários incrustantes da ordem Cheilostomatida, *Aetea sp* e *Watersipora subtorquata*.

Tabela 1. Hidrozoários epibiontes de *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.

Família	Espécie
Haleciidae	<i>Nemalecium lighti</i> (Hargitt, 1924)
Campanulariidae	<i>Clytia gracilis</i> (Sars, 1850)
Campanulariidae	<i>Clytia linearis</i> (Thorneley, 1900)
Campanulariidae	<i>Obelia dichotoma</i> (Linnaeus, 1758)
Campanulariidae	<i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915)
Sertularidae	<i>Dynamena quadridentata</i> (Ellis & Solander, 1786)
Sertularidae	<i>Sertularia distans</i> (Lamouroux, 1816)

Em relação a análise qualitativa das algas epífitas foram encontrados 15 táxons reunidos em 11 famílias (Tabela 2). Entre as famílias encontrou-se duas Clorófitas, duas Ocrófitas e sete Rodófitas. A maior riqueza foi encontrada no mês de fevereiro, 13 táxons.

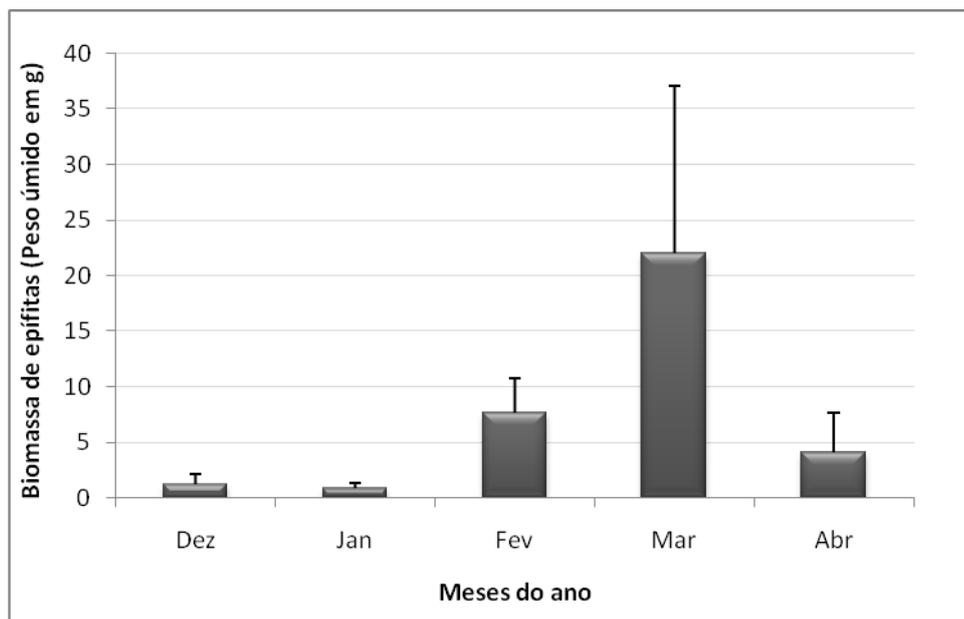
Tabela 2. Espécies de algas epífitas de *S.furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.

Filo	Família	Gênero/Espécie
Rhodophyta	Ceramiales	<i>Centroceras</i> sp.
Rhodophyta	Ceramiales	<i>Spyridia filamentosa</i> (Wulfen) Harvey in Hooker, 1833)
Rhodophyta	Coralinales	<i>Jania</i> sp.
Rhodophyta	Cystocloniales	<i>Hypnea</i> cf. <i>cervicornis</i> (J. Agardh, 1851)
Rhodophyta	Cystocloniales	<i>Hypnea</i> ef. <i>cornuta</i> (Kützinger) J. Agardh, 1851)
Rhodophyta	Cystocloniales	<i>Hypnea</i> sp.
Rhodophyta	Dasyales	<i>Dasya</i> sp.
Rhodophyta	Gelidiales	<i>Gelidium</i> sp.
Rhodophyta	Rhodomelales	<i>Herposiphonia tenella</i> (C.Agardh) Ambronn, 1880)
Rhodophyta	Rhodomelales	<i>Laurencia</i> sp.
Rhodophyta	Solieriales	<i>Wurdemannia</i> sp.
Chlorophyta	Caulerpaceae	<i>Caulerpa ambigua</i> (Okamura, 1897)
Chlorophyta	Derbesiaceae	<i>Derbesia</i> sp.
Ochrophyta	Acinetosporaceae	<i>Feldmannia</i> sp.
Ochrophyta	Sphacelariaceae	<i>Sphacelaria tribuloides</i> (Meneghini, 1840)

5.3.2 Análise quantitativa

Em média, o mês de março apresentou maior biomassa total de epífitas (**peso úmido**) com 22,007 g, seguida pelo mês de fevereiro com média de 7,6848 g e abril com 4,1288 g em média. Já a menor média mensal de biomassa de epífitas foi observada em janeiro com 0,839 g (Figura 12).

Figura 12. Média e desvio mensal da biomassa da comunidade epífita de *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



O maior percentual de biomassa de epífitas foi observado no mês de dezembro, quando a biomassa de 2,692 g por indivíduo correspondeu a aproximadamente 46 % do peso total da planta, e o menor percentual de biomassa foi encontrada em janeiro, onde a biomassa de 2,996 g por indivíduo equivaleu a cerca de 3 % do peso total da planta. Em média, o mês de abril apresentou o maior percentual de epífitas, 22 % aproximadamente em relação ao peso da alga, e o mês de janeiro, o menor percentual, por volta de 10 % em relação ao peso da alga (Tabela 3).

Tabela 3. Peso úmido e percentual para estimativa da biomassa total da comunidade epífita a *S. furcatum*.

Réplicas	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 5	Média	Desvio
Dezembro							
Peso úmido C/E (g)	11,16	3,928	5,81	5,745	7,214		
Peso úmido S/E (g)	10,392	3,436	3,118	4,503	6,093		
Biomassa total de epífitas (g)	0,768	0,492	2,692	1,242	1,121	1,263	0,851
% de epífitas	6,88%	12,52%	46,33%	21,61%	15,53%	20,57%	15,348
Janeiro							
Peso úmido C/E (g)	14,025	16,587	6,081	5,718	8,68		
Peso úmido S/E (g)	13,301	15,988	4,327	5,269	8,011		
Biomassa total de epífitas (g)	0,724	0,599	1,754	0,449	0,669	0,839	0,521
% de epífitas	5,16%	3,61%	28,84%	7,85%	7,70%	10,63%	10,333
Fevereiro							
Peso úmido C/E (g)	63,025	41,067	50,797	87,667	95,944		
Peso úmido S/E (g)	52,862	34,315	40,083	84,671	88,145		
Biomassa total de epífitas (g)	10,163	6,752	10,714	2,996	7,799	7,684	3,089
% de epífitas	16,12%	16,44%	21,09%	3,41%	8,12%	13,04%	7,117
Março							
Peso úmido C/E (g)	118,575	187,216	212,662	36,344	71,036		
Peso úmido S/E (g)	101,092	163,531	170,119	32,027	63,201		
Biomassa total de epífitas (g)	17,483	23,685	42,543	4,317	7,835	19,172	15,154
% de peso de epífitas	14,74%	12,65%	20,00%	11,87%	11,02%	14,06%	3,596
Abril							
Peso úmido C/E (g)	31,153	8,09	14,426	9,946	15,929		
Peso úmido S/E (g)	21,257	7,786	10,27	7,11	12,477		
Biomassa total de epífitas (g)	9,896	0,304	4,156	2,836	3,452	4,128	3,536
% de epífitas	31,76%	3,75%	28,80%	28,51%	21,67%	22,90%	11,324

**S. furcatum* com epífita (C/E), *S. furcatum* sem epífita (S/E), percentual de peso de epífitas em relação ao peso total, (% epífita).

No que diz respeito à análise de variância dos valores de biomassa total de epífitas, houve diferença significativa entre o mês de março (ápice de crescimento do banco) e os meses de dezembro (início do crescimento), janeiro e abril (senescência), mas não houve diferença significativa entre fevereiro e março ($p=0,0034$ e $F=5,615$).

5.4 ANÁLISE DA COMUNIDADE VÁGIL

5.4.1 Análise qualitativa

Foram encontrados nove grupos de invertebrados associados a *S. furcatum*: Foraminifera, Cnidaria - Actinaria, Platyhelminthes - Turbellaria, Nemertea, Nematoda, Sipuncula, Anellida - Polychaeta, Mollusca e Arthropoda, entre dezembro e abril. Cabe ressaltar que Actinaria (anêmonas) foram encontrados junto a fauna vágil, apesar de serem sésseis.

Foram observados artrópodes das classes Pycnogonida e Crustacea. Os crustáceos foram representados por anfípodas gamarídeos e caprelídeos, além de ostrácodos, isópodos e decápodos representados pelas as famílias Xanthidae, Grapsidae e Majidae, esta última encontrada em todos os meses.

Moluscos, representado por gastrópodes e bivalves, foram identificados totalizando 22 táxons encontrados durante todo o estudo (Tabela 4).

Tabela 4. Moluscos associados a *S.furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.

Classe	Família	Espécie
Bivalvia	Calyptraeidae	<i>Bostrycapulus odites</i> (Collin, 2005)
Bivalvia	Hiatellidae	<i>Hiatella arctica</i> (Linnaeus, 1767)
Bivalvia	Mytilidae	<i>Modiolus carvalhoi</i> (Klappenbach, 1966)
Bivalvia	Mytilidae	<i>Musculus lateralis</i> (Say, 1822)
Bivalvia	Ostreidae	<i>Ostrea sp.</i>
Gastropoda	Calyptraeidae	<i>Bostrycapulus odites</i> (Collin, 2005)
Gastropoda	Cerithiidae	<i>Bittium varium</i> (Pfeiffer, 1840)
Gastropoda	Columbellidae	<i>Astyris lunata</i> (Say, 1826)
Gastropoda	Columbellidae	<i>Columbella mercatoria</i> (Linnaeus, 1758)
Gastropoda	Columbellidae	<i>Costoanachis sertulariarum</i> (D'Orbigny, 1841)
Gastropoda	Columbellidae	<i>Mitrella dichroa</i> (G.B. Sowerby I, 1844)
Gastropoda	Columbellidae	<i>Nassarina minor</i> (C.B. Adams, 1845)
Gastropoda	Columbellidae	<i>Nassarina sp.</i>
Gastropoda	Epitoniidae	<i>Epitonium aff. krebsi</i> (Mösch, 1874)
Gastropoda	Fissurellidae	<i>Fissurella clenchi</i> (Farfante, 1943)
Gastropoda	Litiopidae	<i>Alaba incerta</i> (D'Orbigny, 1841)
Gastropoda	Lottidae	<i>Lottia subrugosa</i> (D'Orbigny, 1846)
Gastropoda	Muricidae	<i>Morula nodulosa</i> (C.B. 1845)
Gastropoda	Muricidae	<i>Stramonita brasiliensis</i> (Claremont e D.G.Reid, 2011)
Gastropoda	Nassariidae	<i>Nassarius sp.</i>
Gastropoda	Olividae	<i>Olivella minuta</i> (Link, 1807)
Gastropoda	Rissoidae	<i>Alvania aff. auberiana</i> (D'Orbigny, 1842)

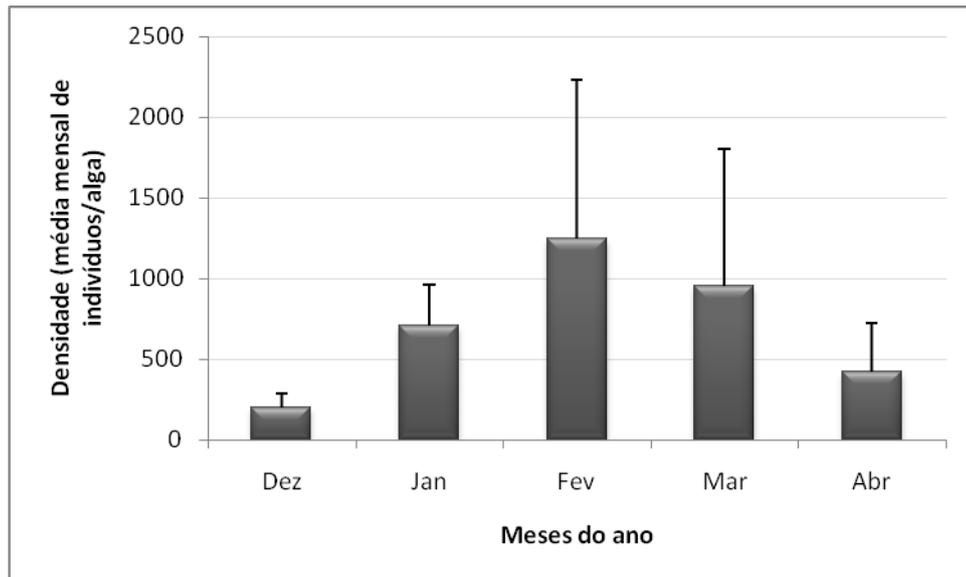
Dentre as poliquetas, foram encontradas dez famílias: Capitellidae, Cirratulidae, Dorvilleidae, Eunicidae, Nereididae, Pilargidae, Sabellidae, Serpulidae (incrustante encontrada junto a comunidade vágil), Spionidae e Syllidae.

5.4.2 Análise quantitativa

Crustáceos, principalmente Gamarídeos e Caprelídeos, mostraram-se os mais abundantes em todos os meses com média máxima de 1250 indivíduos por alga no mês de fevereiro e mínima de 200,7 indivíduos por alga no mês de dezembro. Decapoda também foi encontrado em todos os meses e apresentou média máxima de 2,7 indivíduos por alga, em dezembro e mínima de 0,2 indivíduos por alga, em abril. Isopoda somente não foi encontrado no mês de fevereiro e apresentou média máxima de 0,6 indivíduos por alga, em março e média mínima de 0,2 indivíduos por alga, em janeiro. Por outro lado, o grupo Ostracoda foi encontrado apenas nos meses de dezembro e janeiro com médias de 28 indivíduos por alga e 19,3

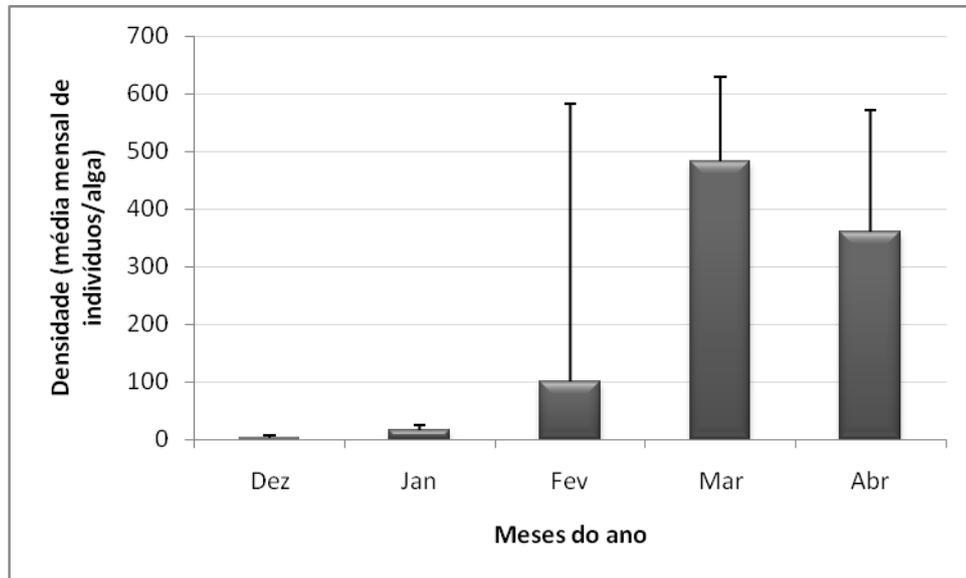
indivíduos por alga, respectivamente (Figura 13). Artrópodes da classe Pycnogonida também foram encontrados nestes meses com médias de 0,1 e 0,2 indivíduos por alga, respectivamente.

Figura 13. Média e desvio mensal da densidade de crustáceos associados a *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



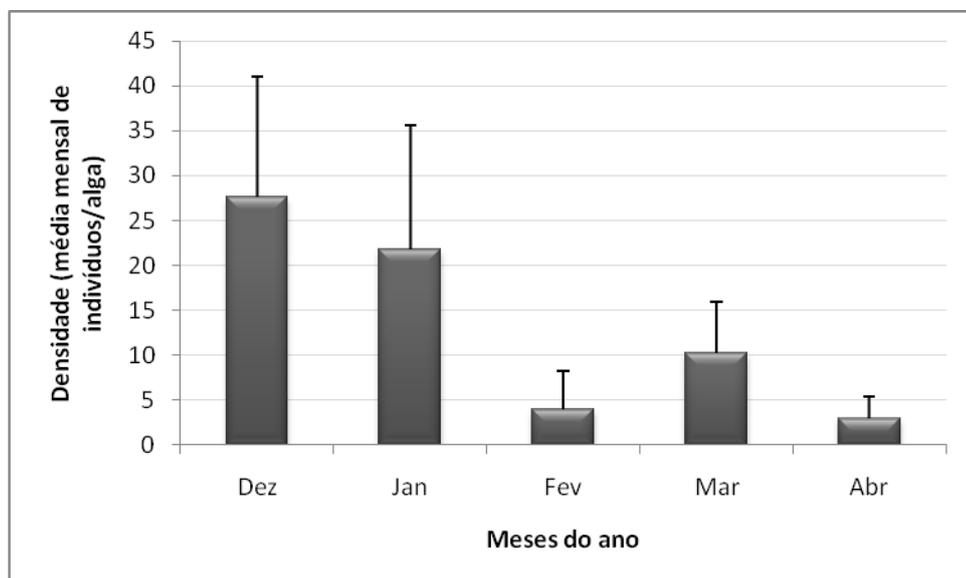
Os moluscos foram observados em todos os meses, sendo o grupo mais numeroso, depois dos crustáceos, em fevereiro, março e abril. Representado por gastrópodes e bivalves, Mollusca atingiu médias máxima de 482,25 indivíduos por alga no mês de março e mínima de 3,4 indivíduos por alga no mês de dezembro (Figura 14).

Figura 14. Média e desvio mensal da densidade de moluscos associados a *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



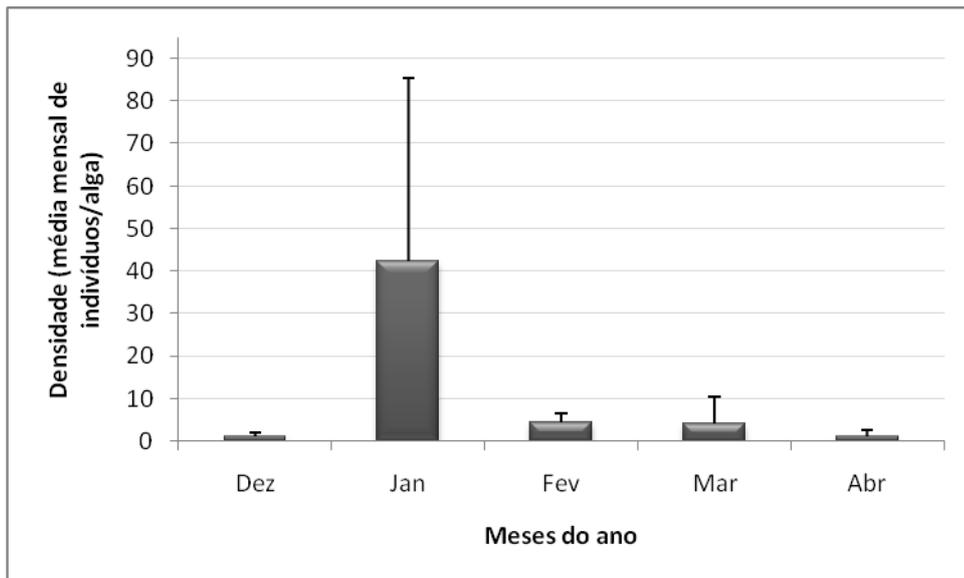
Poliquetas (Anellida - Polychaeta) foram encontradas em todos os meses e apresentaram maior abundância no mês de dezembro com média de 27,6 indivíduos por alga, sendo o segundo grupo mais representativo depois dos crustáceos (Figura 15). No mês de janeiro foi encontrada a maior riqueza com nove famílias. A menor riqueza, com três famílias cada foi encontrada nos meses de março e abril. Sabellidae e Syllidae foram encontradas em todos os meses de estudo.

Figura 15. Média e desvio mensal da densidade de poliquetas associadas a *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



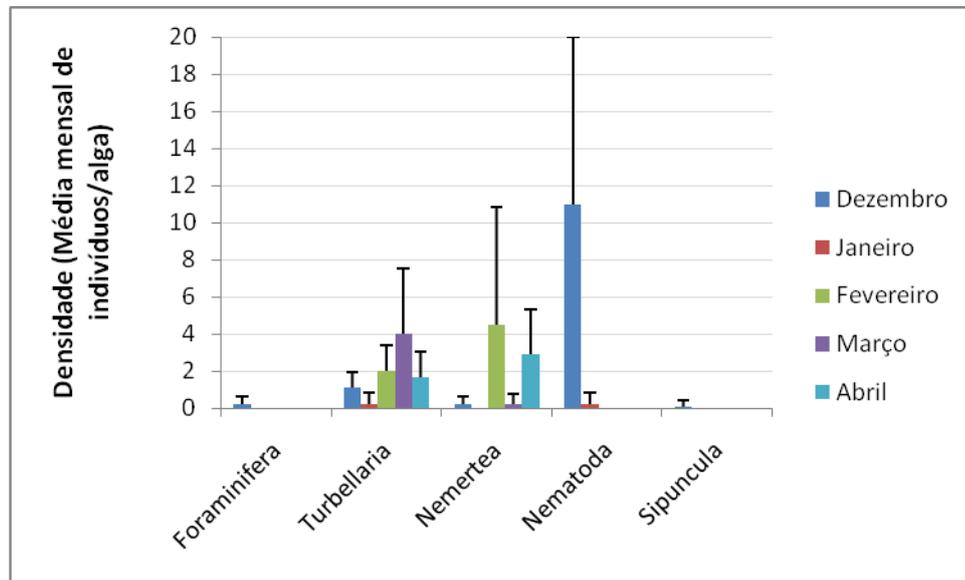
Anêmonas (Cnidaria - Actiniaria) foram encontradas em todos os meses e apresentaram maior abundância no mês de janeiro com média de 42,4 indivíduos por alga, quando foram o segundo grupo mais abundante depois dos crustáceos (Figura 16).

Figura 16. Média e desvio mensal da densidade de anêmonas associadas a *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



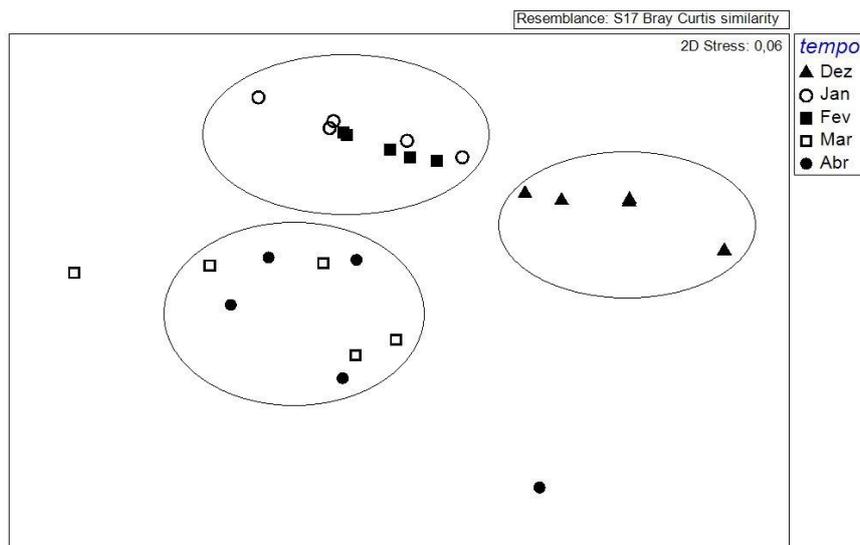
Em relação à densidade dos invertebrados com menor abundância, foraminíferos só foram encontrados em dezembro. Planárias (Platyhelminthes - Turbellaria) foram encontradas em todos os meses. Nemertíneos (Nemertea) foram encontrados em todos os meses, exceto janeiro. Nematódeos (Nematoda) foram encontrados somente nos meses de dezembro e janeiro. Um indivíduo do Filo Sipuncula, pertencente ao gênero *Phascolosoma*, foi encontrado no mês de dezembro (Figura 17).

Figura 17. Média e desvio mensal da densidade dos invertebrados menos abundantes associados a *S. furcatum* no banco da Ilha de Cabo Frio.



O teste estatístico ANOSIM para comparar a densidade dos organismos da comunidade durante o ciclo de *S. furcatum* gerou R_{global} no valor de 0,571. A análise não-métrica de escalonamento multidimensional nMDS mostrou maior similaridade entre janeiro e fevereiro e entre março e abril. O mês de dezembro não foi similar a nenhum outro mês (Figura 18).

Figura 18. Análise não-métrica de escalonamento multidimensional nMDS.



6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que a população de *S. furcatum*, espécie-engenheira do banco de algas do arenito da Ilha de Cabo Frio, aumentou seu crescimento e biomassa, a partir do mês de dezembro atingindo seu ápice em fevereiro e março e entrou na senescência no mês de abril. Esse crescimento associado à ocorrência do fenômeno da ressurgência já foi descrito em diversos trabalhos que estudaram o banco de *S. furcatum* da Ilha de Cabo Frio (Ornellas & Coutinho, 1998; Godoy & Coutinho, 2002; Nogueira-Júnior, 1999 e 2004; Messano & Coutinho, 2006).

Em seu estudo sobre a influência dos nutrientes no crescimento do banco de *S. furcatum* em função do fenômeno da ressurgência, Gonçalves (1999) verificou que o input de nitrato e fosfato causado pela ressurgência teve relação direta com o desenvolvimento do banco. Como foi possível observar nos resultados do presente estudo, as concentrações de nitrato foram as maiores dentre os nutrientes e o aumento de fosfato observado em janeiro podem ter refletido no crescimento do banco. Entretanto, as concentrações dos outros nutrientes não mostraram alta nos valores, nem padrão claramente relacionado com a ocorrência da ressurgência. Entretanto todos os parâmetros populacionais de *S. furcatum* (biomassa, altura, largura e volume intersticial) mostraram que em fevereiro e março o desenvolvimento do banco atingiu seu máximo.

Os dados populacionais do ápice de crescimento do banco obtidos neste estudo, máximas de 33,25 cm (altura), 28,20 g (biomassa) e 27,50 cm (largura), assemelham-se em termos de valores e de relação entre eles aos relatados por Nogueira Junior (1999), para altura e biomassa, onde foram observados máximas de 32,50 cm e 21,94 g, respectivamente, e por Gonçalves (1999) para altura e largura, onde foram verificados máximas de 35,0 cm e 30,0 cm, respectivamente, no mesmo local, no verão de 1997. Ambos verificaram pico de crescimento do banco em janeiro e fevereiro, respectivamente, ao invés de fevereiro e março como neste estudo.

A biomassa de epífitas acompanhou o padrão de desenvolvimento da planta-hospedeira, com maiores valores em fevereiro e março. O crescimento proporcional entre a biomassa de epífitas e a biomassa do *Sargassum* foi constatado em outros trabalhos como Reis *et al.* (2003) e Széchy & Sá (2008). Contudo, foi constatada uma relação inversa entre biomassa e epifitismo em um banco de *Sargassum*

localizado em Ubatuba (Leite & Turra, 2003). Logo, a relação alga-substrato e epífitas nem sempre é positiva (D'Antonio, 1985). Tanto fatores abióticos (como temperatura e nutrientes), quanto fatores bióticos como herbivoria, competição e epifitismo podem justificar a variação da altura e biomassa da planta durante o desenvolvimento (Chapman, 1995), embora o grau de epifitismo e sua relação com o desenvolvimento da alga hospedeira ainda não possua padrão bem definido. Por outro lado, o percentual da comunidade epífita em relação ao peso total da alga mostrou que, em média, os maiores valores percentuais se relacionaram com o início do crescimento e a senescência (maior percentual médio) do banco, tal fato pode estar ligado a condições fisiológicas da planta e/ou à produção de metabólitos secundários.

Os grupos de organismos epífitos mais representativos em *S. furcatum* foram algas, briozoários e hidrozoários. Dentre as algas, o presente estudo mostrou que a maior riqueza foi de rodofíceas, principalmente do gênero *Hypnea*, como também observado por Széchy (1996), que desenvolveu um extenso trabalho sobre populações de *Sargassum* e suas epífitas nos litorais do Rio de Janeiro e São Paulo. Széchy não descreveu como epífitos os gêneros *Feldmannia* e *Wurdemannia*, que foram observados no presente estudo. No que diz respeito à fauna incrustante, foram identificados, além de briozoários e hidrozoários, poliquetos e cirripédios, também identificados por Ramalho (2001) em seu trabalho sobre a epifauna sésil a *S. furcatum* no mesmo local de estudo. Dentre os seis gêneros de hidrozoários encontrados, quatro (*Dynamena*, *Clytia*, *Obelia* e *Orthopyxis*) foram descritos por Ramalho (2001) e um (*Sertularia*) foi descrito como epífitos em *Sargassum* por Széchy (1996). Os dois briozoários (*Aetea sp* e *Watersipora subtorquata*) registrados no presente trabalho também foram descritos por Ramalho (2001), assim como serpulídeos.

Algas epífitas podem compor a dieta dos herbívoros ou interferir na relação entre a abundância de pequenos herbívoros e algas-hospedeiras (Bell *et al.*, 1986). Este estudo mostrou relação entre biomassa da comunidade epífita e densidade de anfípodos gamarídeos e caprelídeos, ambas com valores máximos no mês de março, mesmo mês de máximo desenvolvimento do banco. Tal relação foi constatada por Nogueira Junior (2004) em seu estudo sobre os efeitos físicos e biológicos na estruturação da comunidade fital do banco de *S. furcatum* da Ilha de Cabo Frio, onde sugeriu que essa relação pode estar ligada ao valor nutricional e de

refúgio dos epibiontes para com a a comunidade vágil. Anfípodas são os principais componentes da fauna vágil e atingem altas densidades em bancos de macroalgas de diversas espécies em muitas partes do mundo (Valério-Bernardo & Flynn, 2002; Pereira *et al.*, 2006). A relação de anfípodas associados a *S. furcatum* foram estudados na Ilha de Cabo Frio (Nogueira Junior, 1999 e 2004), em Búzios (Pereira & Yoneshigue-Valentin, 1999) e também no litoral norte de São Paulo (Güth, 2004; Duarte *et al.*, 2017; Carvalho *et al.*, 2018).

Entretanto, Széchy (1996) em seu estudo descreveu os moluscos, ao invés de crustáceos, como o grupo mais numeroso. A densidade dos moluscos no presente estudo também foi bastante expressiva e assim como para os anfípodas também atingiu valores máximos em março, acompanhando o desenvolvimento do banco. Cabe ressaltar, que o gastrópode *Bittium varium* foi descrito por Széchy (1996) como o molusco mais representativo e o mesmo foi observado no banco da Ilha de Cabo Frio no presente trabalho. Tal gastrópode é típico em fital de algas e exibe hábito alimentar detritívoro, embora possam acidentalmente ingerir diatomáceas e outras microalgas (Jacobucci *et al.*, 2006; Fernandes, 2014).

A análise estatística dos dados de densidade da fauna vágil mostrou que apesar dos valores máximos terem sido atingidos em março, os grupos podem não ter acompanhado o crescimento do banco, embora os gráficos de crustáceos (Figura 13) e moluscos (Figura 14), grupos mais representativos da fauna vágil, mostrem uma diminuição da densidade com a senescência do banco. As densidades semelhantes entre o período máximo de desenvolvimento do banco (março) e a senescência (abril) (Figura 18) indicam que a fauna vágil pode persistir na planta hospedeira, mesmo com a queda de folíolos e diminuição da altura, embora seja conhecido que a comunidade vágil tenha alta capacidade de deslocamento e colonização (Gunnill, 1982). Nogueira Junior (1999), em seu estudo sobre o efeito da arquitetura da alga na comunidade fital no mesmo banco *S. furcatum*, relatou correlação significativa entre a fauna vágil e os parâmetros biomassa, volume intersticial e altura, principalmente. No caso do presente estudo, esta correlação não se aplica.

Em relação aos demais grupos encontrados junto a fauna vágil, nematódeos, poliquetas, sipunculídeos, picnogonídeos, isópodas, decápodas e ostracodas também foram descritos por Nogueira Junior (1999). O presente estudo complementa a fauna do arenito do banco de *S.furcatum* da Ilha de Cabo Frio,

descrevendo ainda os grupos Foraminifera, Actiniaria e Turbellaria. Anêmonas e poliquetas, apesar de terem sido encontradas em todos os meses em densidades relevantes, não apresentaram relação com o crescimento do banco. Dentre as dez famílias de poliquetas observadas, Capitellidae foi descrita por Almeida e Ruta (2010) no banco sazonal de *S. furcatum*.

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, a hipótese proposta inicialmente sobre o crescimento de *S. furcatum* foi aceita, visto que o desenvolvimento do banco de *S. furcatum* no arenito da Ilha do Cabo Frio teve de fato um desenvolvimento acentuado no verão de 2015, com crescimento a partir de dezembro, ápice em fevereiro e março e senescência em abril. No que diz respeito a hipótese de variação da comunidade associada a *S. furcatum*, esta foi aceita em parte, pois houve um aumento na biomassa de epibiontes proporcional ao desenvolvimento da alga hospedeira, porém a fauna vágil pode ter persistido no banco mesmo com a senescência das plantas. Não houve uma variação expressiva nos aspectos qualitativos da comunidade associada ao banco de *S. furcatum* ao longo dos meses.

Por fim, cabe ressaltar que este ecossistema sazonal tão rico e diverso, durante alguns anos sofreu um colapso e por pelo menos cinco anos não apresentou biomassa significativa no período entre novembro e abril (Gonçalves, com. Pess.). Esse fenômeno foi observado em outros bancos de *Sargassum*, como o da Prainha em Arraial do Cabo (Abud, 2011), assim como em outros lugares da costa. O material analisado neste trabalho foi coletado durante primeiro crescimento do banco após os anos de colapso, indicando a alta resiliência e resistência do banco e da comunidade associada.

7 CONCLUSÕES

- O banco de *S. furcatum* apresentou desenvolvimento sazonal no verão de 2015, após o colapso, como já relatado em anos anteriores.
- Aumento de fosfato e nitrato aparentemente influenciaram no crescimento do banco de *S.furcatum*.
- Os principais grupos de epibiontes foram algas, hidrozoários e briozoários e sua biomassa total atingiu o ápice no máximo de desenvolvimento do banco de *S. furcatum* no mês de março.
- A fauna vágil foi composta principalmente por crustáceos anfípodas e moluscos sua densidade também atingiu o ápice no máximo de desenvolvimento do banco de *S. furcatum* no mês de março, porém se manteve durante a senescência das plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUD, F. A. S. Acompanhamento de um banco de *Sargassum* C. Agardh (Ochrophyta) na Prainha, Arraial do Cabo, RJ. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Biologia Marinha) - Faculdades Integradas Maria Thereza, 65 pp. 2011.
- ALMEIDA, T.C.M. & RUTA, C. 2000. Effects of a subtidal macroalgae bed on soft-bottom polychaete assemblages in Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brazil. *Bulletin of Marine Science*, 67(1): 199–207, 2000.
- BERGEY, E.A.; BOETTIGER, C.A. & RESH, V.H. 1995. Effects of water velocity on the architecture and epiphytes of *Cladophora glomerata* (Clorophyta). *J. Phycol.*31: 264-271.
- BELL, J.D & WESTOBY, M. Abundance of macrofauna in dense seagrass is due to habitat preference, not predation. *Oecologia (Berl)* 68:205–209. 1986.
- BOADEN, P.J.S.; O'CONNOR, R.J. & SEED, R. The fauna of a *Fucus serratus* community, ecological isolation in sponges and tunicate. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 21, pp. 249-267. 1975.
- BOURGET, E.; DEGUISE, J. & DAIGLE, G. Scales of substratum heterogeneity, structural complexity, and the early establishment of a marine epibenthic community. *J Exp Mar Biol Ecol* 181:31-5. 1994.
- CANDELLA, R.N. Meteorologically induced strong seiches observed at Arraial do Cabo, RJ, Brazil. *Physics and Chemistry of the Earth* 34: 989-997. 2009.
- CARVALHO, N.F.; GRANDE, H.; ROSA FILHO, J.S. & JACOBUCCI, G. B. The structure of gammarid amphipod (Crustacea, Peracarida) assemblages associated with *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) and their link with the structural complexity of algae. *Hydrobiologia*. 2018.
- CHAPMAN, A. R. O. Functional ecology of fucoid algae: twenty-three years of progress. *Phycologia*: January 1995, Vol. 34, No. 1, pp. 1-32. 1995.
- CHEMELLO, R. & MILAZZO, M. Effect of algal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. *Marine Biology* 140: 981-990. 2002.
- CROWE, T.P. & UNDERWOOD, A.J. Testing behavioral "preference" for suitable microhabitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 225: 1-11. 1998.
- D'ANTONIO, C. Epiphytes on the rocky intertidal red alga *Rhodomela larix* (Turner) C. Agardh: negative effects on the host and food for herbivores? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 86: 197-218. 1985.
- DUARTE, R.C.; FLORES, A.A.V.; VINAGRE, V. & LEAL, M.C. Habitat-dependent niche partitioning between colour morphs of the algal-dwelling shrimp *Hippolyte obliquimanus*. *Mar Biol* (2017) 164-215. 2017.

- FERNANDES, M.C. Estrutura da comunidade de Gastropoda e Bivalvia (Mollusca) associados às algas pardas do gênero *Sargassum* C. Agardh, 1820 (Sargassaceae) do canal de São Sebastião, Litoral Norte do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado (Ecologia). Universidade Estadual de Campinas. 58pp. 2014.
- FERREIRA, C.E.L, GONÇALVES, J.E.A. & COUTINHO, R. Community structure of fishes and habitat complexity on a tropical rocky shore. *Environmental Biology of Fishes* 61: 353-369. 2001.
- GODOY, E.A. DE S. & COUTINHO, R. Can Artificial Beds of Plastic Mimics Compensate for Seasonal Absence of Natural Beds of *Sargassum furcatum*? *Journal of Marine Science* 59, 111-115. 2002.
- GONÇALVES, J.E.A. Influência da temperatura, luz e nutrientes (N e P) na dinâmica populacional de *Sargassum furcatum* KUETZING (PHAEOPHYTA: FUCALES) na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. Dissertação de mestrado. Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1999.
- GUNNIL, F.C. Effects of plant size and distribution on the numbers of invertebrate species and individuals inhabiting the brown alga *Pelvetia fastigiata*. *Marine Biology* 69: 263-280. 1982.
- GÜTH, A.Z. A comunidade fital: variação espacial e nictemeral da epifauna, especialmente anfípodos, associada à alga parda *Sargassum spp* em quatro praias de Ubatuba, litoral norte da estado de São Paulo. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. 2004.
- HACKER, S. D. & STENECK, R. S. Habitat architecture and the abundance and body-size-dependent habitat selection of a phytal amphipod. *Ecology* 71: 2269-2285. 1990.
- HICKS, G.R.F. Meiofauna associated with rocky shore algae. In: P.G. Moore and R. Seed, editors. *The ecology of rocky coasts: essays presented to J.R. Lewis*, 36-56. Columbia University Press, New York, USA. 1986.
- HULL, S.L. Seasonal changes in diversity and abundance of ostrácodos on four species of intertidal algae with differing structural complexity. *Marine Ecology Progress Series* 161: 71-82. 1997.
- JACOBUCCI, G. B.; GÜTH, A. Z.; TURRA, A.; MAGALHÃES, C. A.; DENADAI, R.; CHAVES, A. M. R. & SOUZA, E. C. Levantamento de Mollusca, Crustacea e Echinodermata associados à *Sargassum spp*. na Ilha de Queimada Pequena, Estação Ecológica dos Tupiniquins, litoral sul do estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica* 6(2): 1-8. 2006.
- JACOBI, C. M. & LANGEVIN, R. Habitat geometry of benthic substrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 206:39-54. 1996.

- JARVIS, S.C. & SEED, R. The meiofauna of *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jolis: characterization of the assemblages associated with two common epiphytes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 199(2): 249-267. 1996.
- KOVALENKO, K.E., THOMAZ, S.M. & WARFE, D.M. Habitat complexity: approaches and future directions. *Hydrobiologia* . 685:1–17. 2012.
- LAWRIE, S. & RAFFAELLI, D. In situ swimming behaviour of the amphipod *Corophium volutator*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 224: 237–254. 1998.
- LEITE, F.P.P. & TURRA, A. Temporal variation in *Sargassum* biomass, *Hypnea* epiphytism and associated fauna. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46(4): 663-669. 2003.
- LEVIN, P. S. & MATHIESON, A. C. Variation in a host - epiphyte relationship along a wave exposure gradient. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77: 271 278. 1991.
- LIMA, L. H. Comunidades associadas a duas espécies de *Sargassum* no canal de São Sebastião, SP – Fatores determinantes. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 115 p. 2002.
- MANNINO, A. M. Temporal and spatial variation of the algal community in a southern Mediterranean shallow system. *Cryptogamie, Algol.*, 31 (2): 255 272. 2010.
- MARTIN-SMITH, K.M. Abundance of mobile epifauna: the role of habitat complexity and predation by fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 174: 243-260. 1993.
- MESSANO, L. V. R. DE & COUTINHO, R., Variação temporal da comunidade de macroalgas epífitas em *Sargassum furcatum* Kützing (Phaeophyta:Fucales) da Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. I Congresso Brasileiro de Biologia Marinha. Niterói, Rio de Janeiro. 15 a 19 de maio. 2006.
- NOGUEIRA-JUNIOR, J.D. Efeito da arquitetura da "habitat" na sazonalidade da macrofauna mável associada a *Sargassum furcatum* Kuetzing (Phaeophyta:fucales) na Ilha de Cabo Frio, Arraial de Cabo, RJ. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia. Universidade Federal Fluminense. 1999.
- NOGUEIRA-JUNIOR., J.D. Estudo da interações físicas e biológicas na estruturação do fital de *Sargassum furcatum* na Ilha de Cabo Frio. Tese de Doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darci Ribeiro. 2004.
- ORNELLAS, A.B. Variação sazonal na estrutura da comunidade e relações tróficas em uma guilda de peixes predadores da macrofauna bentônica na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de mestrado da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 75pp. 1998.

ORNELLAS, A. B. & COUTINHO, R. Spatial and temporal patterns of distribution and abundance of a tropical fish assemblage in a seasonal *Sargassum* bed, Cabo Frio Island, Brazil. *Journal of Fish Biology*, 53 (A): 198–208. 1998.

ORTHS, R.J.; HECK, K.L. & VAN MONTFRANS, J. Faunal communities in seagrass beds: a review of the influence of plant structure and prey characteristics on predator-prey relationship. *Estuaries*. 7:339-350. 1984.

PAULA, E. J. & ESTON, V. R. Are the other *Sargassum* species potentially as invasive as *S. muticum*? *Botanica Marina*, 30: 405–410. 1987.

PEREIRA, S.G.; LIMA, F.P.; QUEIROZ, N.C.; RIBEIRO, P.A. & SANTOS, A.M. Biogeographic patterns of intertidal macroinvertebrates and their association with macroalgae distribution along the Portuguese coast. *Hydrobiologia* 555:185–192. 2006.

PEREIRA, R.C. & YONESHIGUE-VALENTIN, Y. The Role of Polyphenols from the Tropical Brown Alga *Sargassum furcatum* on the Feeding by Amphipod Herbivores. *Botanica Marina* Vol. 42:441-448. 1999.

RAMALHO, L. V. Distribuição espaço-temporal da epifauna sésil de *Sargassum furcatum* Kützing (Phaeophyta :Fucales) e sua mimíca na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 88p. 2001.

REIS, R.P.; LEAL, M.C.R.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y. & BELLUCO. Efeito de fatores abióticos no crescimento de *Hypnea musciformis* (Rhodophyta-Gigartinales). *Acta Botanica Brasílica*, 17: 279-286. 2003.

RUITTON, S.P.; FRANCOUR & BOUDOURESQUE, C.F. Relationships between algae, benthic herbivorous invertebrates and fishes in rocky sublittoral communities of a temperate sea (Mediterranean). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 50: 217-230. 2000.

SAVI, D.C.; TENÓRIO, M.C.; CALIPPO, F.R.; TOLEDO F.A.L.; GONZALEZ, M.M.B. & AFONSO M.C. Beachrocks o Sambaqui da Ilha do Cabo Frio. In: ABEQUA, Cong. da ABEQUA, 10, Resumos, p. 29. 2005.

STACHOWICZ, J.J. & LINDQUIST, N. Chemical defense among hydroids on pelagic *Sargassum*: predator deterrence and absorption of solar UV radiation by secondary metabolites. *Marine Ecology Progress Series* 155:115-126. 1997.

STRAUSS, S.Y. Indirect effects in community ecology: their definition, study and importance. *Tree*. 6 (7): 206-210. 1991.

SZÉCHY, M.T.M. Estrutura de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta-Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Tese de doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 1996.

SZÉCHY, M.T.M. & SÁ, A.D.F. Variação sazonal do epifitismo por macroalgas em uma população de *Sargassum vulgare* C.Agardh (Phaeophyceae, Fucales) da Baía da Ilha Grande, Rio de Janeiro. Oecol. Bras., 12(2): 299-314. 2008.

TAKEUCHI, I.; KUWABARA, R.; HIRANO, R. & YAMAKAWA, H. Species compositions of the Caprellideas (Crustacea: amphipoda) of the *Sargassum* zone on the Pacific coast of Japan. Bull. Mar. Sci. Coral Gables, 41(2): 253-267. 1987.

TANAKA, M. O. & LEITE, F. P. P. Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum*: variation on faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 293(1):1-22. 2003.

VALENTIN, J. L. Ressurgência: fonte de vida dos oceanos. Ciência Hoje, 18(102):9-25. 1994.

VALÉRIO-BERARDO, M.T. & M.N. FLYNN. Composition and seasonality of an amphipod community associated to the algae *Bryocladia trysigera*. Revista Brasileira de Biologia 62(4): 735-742. 2002.

WALTERS, L.J. & WETHEY, D.S. Settlement and early post-settlement survival of sessile marine invertebrates on topographically complex surfaces: the importance of refuge dimensions and adult morphology. Mar Ecol Prog Ser 137: 161–171. 1996.

CAPÍTULO 2

Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de *Sargassum furcatum* (Kützinger, 1843) e suas epífitas.

RESUMO

A bioincrustação marinha resulta da colonização de organismos em superfícies de origem antropogênica e esse crescimento pode causar uma série de prejuízos a atividades marítimas. Bactérias são colonizadoras pioneiras em superfícies expostas a água do mar, formam o biofilme e facilitam a proliferação de outros microorganismos, podendo influenciar no assentamento e na colonização de macroorganismos incrustantes. Assim, interferir no desenvolvimento desses microincrustantes primários através de compostos naturais marinhos não poluentes é uma forma promissora de inibir a bioincrustação. O uso de tintas a base de biocidas em estruturas antropogênicas submersas é o método de proteção mais aplicado para o controle da bioincrustação. Biocidas tóxicos também a organismos não-alvo foram utilizados por muitos anos, como por exemplo o tributilestanho (TBT), banido pela Organização Marítima Internacional (IMO). Desde então, existe uma busca por métodos biocidas naturais. A descoberta de metabólitos com atividade biológica a partir de macroalgas vem crescendo substancialmente. O gênero *Sargassum* está entre os detentores de compostos antibacterianos e com propriedades anti-incrustantes. Visto que as bactérias possuem um papel importante na fase inicial da bioincrustação e influenciam no estabelecimento de outros organismos, este estudo visa avaliar a atividade antibacteriana de *Sargassum furcatum* e suas epífitas. Exemplares da alga parda *S. furcatum* foram coletados e lavados para a retirada dos detritos e da fauna associada. Retiraram-se as epífitas de apenas metade das amostras a fim de se obter extratos de algas com e sem epífitas. Foram utilizados três solventes: água destilada, etanol e diclorometano. Foi feito um ensaio por microdiluição em caldo para avaliar a ação inibidora e a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos sobre as bactérias incrustantes *Vibrio estuarians*, *Pseudoalteromonas selyakovii*, *Polibacter irligensi*, *Pseudomonas fluorescens* e *Shewanella putrefaciens*. Os extratos de *S. furcatum* não epifitados apresentaram maior atividade antibacteriana em relação aos epifitados com solvente diclorometano. Os extratos em meio aquoso e de etanol também apresentaram atividade antibacteriana, mas em menor percentual. Nos extratos não epifitados, as maiores inibições ao crescimento bacteriano foram sobre *P. selyakovii* e *P. fluorescens*, no extrato de diclorometano, *S. putrefaciens* e *V. estuarians*, no extrato aquoso, e *P. selyakovii*, no extrato de etanol. As cepas de *S. putrefaciens* foram as que mais sofreram inibição por parte dos extratos epifitados, juntamente com *V.*

estuarians, nos extratos de diclorometano e aquoso, e com *P. irgensis*, no extrato de etanol. Em geral, a concentração mínima inibitória dos extratos foi de 1 µg/ml sobre todas as bactérias, exceto pelo extrato de etanol com epífitas sobre a bactéria *P. selyakovii*, onde a CIM foi 5 µg/ml. A hipótese de que o epifitismo influencia na atividade antibacteriana de *S. furcatum* foi confirmada. Observou-se que extratos epifitados tem atividade antibacteriana menor do que os extratos não epifitados. Sendo assim, extratos não epifitados de *S. furcatum*, cujo solvente de extração utilizado seja diclorometano parecem possuir compostos bioativos antibacterianos promissores para a síntese de anti-incrustantes para o desenvolvimento de tintas a base de produtos naturais.

Palavras-chave: Bioincrustação. Biocidas. Epífitas.

ABSTRACT

Marine biofouling results from the colonization of organisms on anthropogenic surfaces and its growth can be harmful to marine activities. Bacteria are pioneer organisms on surfaces exposed to seawater, forming the biofilm that facilitates the proliferation of other microorganisms, and can influence the settlement and colonization of fouling macroorganisms. Hence, interfering with the development of these primary colonizers using a natural and non-toxic marine product might be a promising method of biofouling inhibition. The use of biocide-based paints on structures is the common method for biofouling control. Biocides toxic also to non-target organisms have been used for years, as for example, tributyltin (TBT) banned by the International Maritime Organization (IMO). Since then, a search for natural biocidal methods has been initiated and metabolites with biological activity from macroalgae has noticeably increased. The genus *Sargassum* is known by antibacterial compounds and anti-fouling properties. Since bacteria play an important role in the initial phase of biofouling and influence the establishment of other organisms, this study aims to evaluate the antibacterial activity of *Sargassum furcatum* and its epiphytes. Samples of the brown algae *S. furcatum* were collected and washed to remove debris and associated fauna. The epiphytes were removed from half of the samples in order to obtain algae extracts with and without epiphytes. Three solvents were used: distilled water, ethanol and dichloromethane. A broth microdilution assay was performed to evaluate the inhibitory action and minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts on *Vibrio estuarians*, *Pseudoalteromonas selyakovii*, *Polibacter irgensis*, *Pseudomonas fluorescens* and *Shewanella putrefaciens*. The extracts without epiphytes of *S. furcatum* showed higher antibacterial activity than extracts with epiphytes with dichloromethane. The extracts in aqueous and ethanol also presented antibacterial activity, but in a smaller proportion. In the extracts without epiphytes, the greatest inhibitions on bacterial growth were on *P. selyakovii* and *P. fluorescens* in the extract of dichloromethane, *S. putrefaciens* and *V. estuarians* in the aqueous extract, and *P. selyakovii*, in the ethanol extract. The strains of *S. putrefaciens* were the most inhibited by extracts with epiphytes, together with *V. estuarians*, in dichloromethane and aqueous extracts, and with *P. irgensis*, in the ethanol extract. In general, the minimum inhibitory concentration of the extracts was 1 µg / ml to all bacteria, except for the ethanol extract with epiphytes on *P. selyakovii* bacteria, where the MIC was 5 µg / ml. The

hypothesis that epiphytic influences on the antibacterial activity of *S. furcatum* was confirmed. It has been observed that epiphyte extracts have decreased antibacterial activity compared to non-epiphyted extracts. Thus, non-epiphyted extracts of *S. furcatum* with dichloromethane appear to have promising antibacterial bioactive compounds for the synthesis of antifouling agents for the development of paints based on natural products.

Keywords: Biofouling. Biocides. Epiphytes.

1 INTRODUÇÃO

O processo de bioincrustação inicia-se com a formação do biofilme. Bactérias são os primeiros organismos a colonizar superfícies expostas em água do mar (Hölmstrom & Kjellberg, 1994), facilitando a proliferação de microorganismos que se multiplicam e formam o biofilme, e podendo influenciar no assentamento e na colonização de macroorganismos incrustantes tais como mexilhões, macroalgas, cirripédios e briozoários (Cao *et al.*, 2011; Davies *et al.*, 1998), uma vez que muitos invertebrados preferem substrato já colonizados primariamente (Little, 1984). Desta forma, interferir no desenvolvimento desses microincrustantes primários através de compostos naturais marinhos não-poluentes pode ser uma forma promissora de inibir a macroincrustação em estruturas de origem antropogênica (Hellio *et al.*, 2000).

A bioincrustação marinha pode causar uma série de prejuízos às atividades marítimas (Da Gama *et al.*, 2009). A fixação de organismos incrustantes em estruturas de cunho comercial e tecnológico feitas pelo homem tem acarretado uma série de transtornos a atividades como navegação, indústria petrolífera e aquicultura. Em navios, podem diminuir a capacidade de manobra e aumentar o arrasto hidrodinâmico, o consumo de combustível e os custos de manutenção, além da corrosão (Chambers, 2000; Cao *et al.*, 2011).

O uso de tintas em estruturas expostas ao ambiente marinho, como nos cascos de navios, é o método de proteção mais aplicado para o controle da bioincrustação (Chambers *et al.*, 2014). Entretanto, diversas formas de combate à bioincrustação têm sido usadas ao longo dos anos baseadas no uso de biocidas tóxicos (Castro *et al.*, 2011; Guardiola *et al.*, 2012). Antigamente, usava-se chumbo misturado a óleo de baleia, enxofre e arsênio para revestir barcos de madeira e evitar a bioincrustação. Ao longo dos anos, materiais como cobre, níquel e zinco, foram utilizados, porém, o desenvolvimento de tintas propriamente dito se deu a partir do século XIX (Yebera *et al.*, 2004). Nos anos 1960, então, surgiram as tintas mais eficientes já desenvolvidas, à base de compostos organoestanhos: tributilestanho (TBT) e trifenilestanho (TPT) (Fernandez & Pinheiro, 2007; Dafforn *et al.*, 2011).

O uso do tributilestanho (TBT), foi banido pela Organização Marítima Internacional (IMO) no ano de 2008, visto que, apesar da sua eficiência, suas

propriedades bioacumuladoras e sua toxicidade atingia não só os organismos alvos (Da Gama *et al.*, 2009; Hellio, 2010). Desde então, há uma constante busca por métodos anti-incrustantes a base de produtos naturais, produzidos, principalmente, por organismos marinhos (Da Gama *et al.*, 2009; Hölmstrom & Kjelleberg, 1994).

Produtos naturais marinhos desempenham vários papéis ecológicos, tais como defesa contra predadores, competidores, organismos incrustantes e patógenos (Pereira & Gama, 2008; Lages *et al.*, 2015). São substâncias químicas que não estão envolvidas diretamente no crescimento, desenvolvimento ou reprodução. Trata-se dos metabólitos secundários, respostas dos organismos ao ambiente em que vivem. Terpenos, esteróides, ácidos graxos e alcalóides são exemplos metabólitos secundários com propriedades ecológicas (Hay & Fenical, 1996; Lages *et al.*, 2015) encontrados em organismos marinhos como algas (Pereira & Gama, 2008), esponjas (Batista *et al.*, 2014), ascídias (Tarjuelo *et al.*, 2002) e octocorais (Lages, *et al.*, 2006).

Nas últimas décadas, a descoberta de metabólitos secundários com atividade biológica a partir de macroalgas cresceu substancialmente (Smit, 2004). Através de processos físicos e químicos, as algas podem evitar a epibiose, apesar de serem suscetíveis a bactérias causadoras de doenças, degradação de tecidos e diminuição da fotossíntese (Ivanova *et al.*, 2004; Campbell *et al.*, 2011). Entretanto, algumas algas são raramente epifitadas por bactérias, indicando a possível presença de mecanismos de defesa (Clare, 1996; Hellio *et al.*, 2000). Produtos naturais de organismos sésseis marinhos que previnam a epibiose são potenciais agentes anti-incrustantes (Da Gama *et al.*, 2009; Pereira, 2009).

A eficiência antibacteriana de macroalgas marinhas foi reportada por Ríos *et al.* (2009) que destacaram a atividade de várias espécies contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Segundo Lima-Filho *et al.* (2002), a atividade antimicrobiana depende de dois fatores: da espécie de alga e da eficiência na extração dos compostos ativos. Como uma eficiente estratégia de investigação, solventes orgânicos têm sido utilizados para a extração de possíveis princípios ativos de macroalgas marinhas.

As ocrófitas dominam os costões rochosos, formam bancos e variam de tamanho, desde formas microscópicas até as maiores algas marinhas conhecidas. Em regiões tropicais e subtropicais, essa divisão é representada por algas de pequeno porte. No Brasil, o gênero *Sargassum* está entre as maiores algas pardas

encontradas em regiões costeiras (Pereira, 2009).

O gênero *Sargassum* está entre os detentores de compostos antioxidantes, antibacterianos, antitumorais, antimaláricos, anti-herbivoria e com propriedades anti-incrustantes (Plouguerné *et al.*, 2010; Schwartz *et al.*, 2017). Os metabólitos secundários do *Sargassum* incluem compostos fenólicos, também conhecidos como florotaninos (Kamiya *et al.*, 2010). Florotaninos são relacionados ao poder antimicrobiano, mas também são conhecidos por desempenhar um papel no metabolismo primário, servindo como componentes da parede celular de algas pardas (Paul & Puglisi, 2004).

Tendo em vista a importância da prospecção de substâncias anti-incrustantes naturais e o papel que o crescimento de bactérias e a formação do biofilme tem na fase inicial da bioincrustação, o presente trabalho visa estudar a atividade antibacteriana da alga *Sargassum furcatum* e a influência de suas epífitas nessa atividade. Em Arraial do Cabo, a espécie apresenta um aumento considerável de biomassa na primavera e no verão e forma um extenso banco sazonal na Ilha do Cabo Frio. A macroalga hospeda diversos organismos (invertebrados, algas e peixes), (Ornellas & Coutinho, 1998; Nogueira-Júnior, 2004; Messano & Coutinho, 2006) e o efeito do epifitismo na atividade antibacteriana da espécie ainda não foi estudado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antibacteriana de *Sargassum furcatum* na presença e na ausência de epífitas, com o intuito de verificar o efeito da comunidade epibionte na atividade antibacteriana da alga.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Testar atividade antibacteriana de extrato bruto de *S.furcatum* na presença de epífitas em cinco cepas de bactérias marinhas incrustantes.

Testar atividade antibacteriana de extrato bruto de *S.furcatum* na ausência de epífitas em cinco cepas de bactérias marinhas incrustantes.

3 HIPÓTESE

H0: O epifitismo em *S.furcatum* não influencia em sua atividade antibacteriana.

H1: O epifitismo em *S.furcatum* influencia em sua atividade antibacteriana.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA DOS ORGANISMOS

Dez exemplares da alga parda *S. furcatum* foram coletados, por meio de mergulho autônomo, no banco sazonal da Ilha do Cabo Frio, em Arraial do Cabo, em janeiro de 2017. O material foi trazido ao laboratório em sacos zip bag armazenados em cooler.

4.2 TRATAMENTO DAS ALGAS

Em laboratório, as algas foram lavadas com água do mar filtrada para a retirada dos detritos e da fauna associada.

Em seguida, retirou-se as grandes epífitas com auxílio de pinça e lupa de metade dos exemplares. Estes foram colocados em solução de etanol a 30% durante dez (10) minutos para que a microflora fosse removida (Hellio *et al.*, 2000). Não passaram por esse processo a outra parte dos exemplares a fim de se obter extratos de algas com presença de epífitas.

O volume das amostras com e sem epífitas foi determinado através do deslocamento de líquido em proveta graduada, após a imersão dos exemplares, e o peso úmido utilizando balança de precisão com três casas decimais. Após este procedimento, as algas foram congeladas até o início da preparação dos extratos.

Após serem retiradas do freezer, as algas foram secas ao ar à sombra em temperatura ambiente em torno de 24° C por 24 horas. Em seguida, o peso seco das algas foi medido utilizando balança de precisão com três casas decimais para obtenção do rendimento dos extratos.

4.3 PREPARO DOS EXTRATOS

Para a extração das amostras foram utilizados três solventes de diferentes polaridades: solução aquosa (água destilada), etanol e diclorometano (Hellio *et al.*, 2000; Maréchal & Helio, 2010). As algas foram colocadas, separadamente, em recipientes de vidro e embebidas em cada solvente durante 24 horas.

Após cada extração, os extratos foram filtrados em filtro de papel e

transferidos para tubos de ensaio, onde foram evaporados até à secura em capela e com auxílio de um Turbo Vap em banho Maria, a uma temperatura de 50 °C para aumentar a eficiência no processo de evaporação dos solventes.

Os extratos ficaram armazenados em refrigerador até serem utilizadas nos testes. O peso seco dos extratos foi determinado em uma balança analítica para 0,001 g afim de determinar o percentual de rendimento dos extratos baseado na massa de alga utilizada para extração e a massa do extrato bruto proveniente dela (Maréchal & Helio, 2010, Batista *et al.*, 2014).

Os extratos brutos, com e sem epífitas, nos diferentes solventes, foram diluídos em 100 ml de metanol, solvente escolhido para a solubilização (Maréchal & Helio, 2010), formando uma solução "mãe". Foi calculada, a partir do rendimento de cada extrato, a concentração desta solução "mãe", que foi considerada a concentração inicial. A partir desta solução e sua concentração, foram feitas novas diluições com finalidade de se obter as diferentes concentrações a serem testadas através da equação:

$$C_0 \cdot V_0 = C_F \cdot V_F$$

Onde,

C_0 = Concentração inicial

V_0 = Volume inicial

C_F = Concentração final

V_F = Volume final

4.4 CRESCIMENTO BACTERIANO

Para promover o crescimento bacteriano e os testes antibacterianos, foi preparado meio de cultura líquido com Difco™ Marine Broth 2216 e água destilada, na proporção de 37,4 g de meio para 1 litro de água destilada. O meio foi autoclavado a uma temperatura de 120 °C, durante 30 minutos.

No Laboratório de Biofilme do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM), cada cepa de bactéria foi replicada e cultivada no meio líquido descrito no item anterior por uma semana na estufa a uma temperatura de 30 °C.

Após este intervalo de tempo, foram preparadas soluções dos meios de cultura de cada espécie de bactéria contendo aproximadamente $2 \cdot 10^8$ cel/ml.

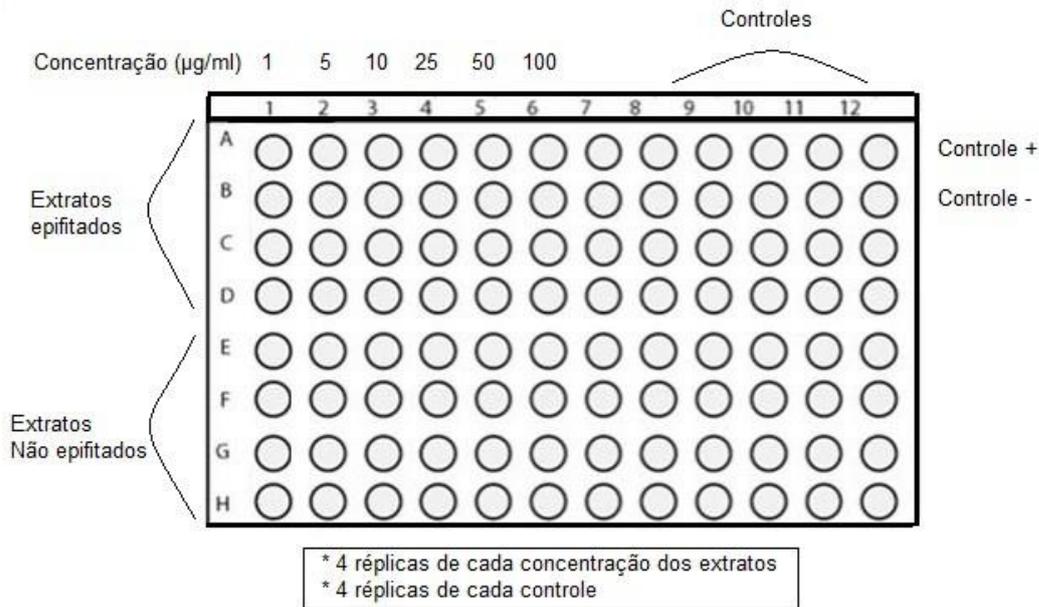
4.5 TESTES DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

O ensaio consistiu no método de microdiluição em caldo para avaliar a ação inibidora e a concentração inibitória mínima (CIM) de extratos de algas com e sem epífitas, nos diferentes solventes de extração. Os extratos foram testados em seis diferentes concentrações (1, 5, 10, 25, 50 e 100 µg/ml), com quatro repetições para cada uma delas. O controle negativo consistiu no solvente utilizado no processo de solubilização (metanol). Já o controle positivo consistiu na incorporação de um antibiótico, a estreptomicina (Hellio *et al.*, 2005).

Para os testes da atividade antibacteriana foram utilizadas cinco cepas de bactérias marinhas, sendo quatro espécies incrustantes e Gram-negativas *Vibrio estuarians*, *Pseudoalteromonas selyakovii*, *Polibacter irgensis* e *Pseudomonas fluorescens*, além de uma espécie Gram-positiva, incrustante e também atuante em processo de corrosão, a *Shewanella putrefaciens* cultivadas no Laboratório de Biofilme do IEAPM.

Para realização dos ensaios, foram utilizadas microplacas de polietileno com 96 poços e fundo plano. As placas foram montadas com os extratos com e sem epífitas de cada um dos três solventes (aquoso, etanol e diclorometano) nas diferentes concentrações (1, 5, 10, 25, 50 e 100 µg/ml) e os controles, 100 µl em cada poço, com 4 repetições de cada concentração e controle (Figura 19). Três placas foram utilizadas para cada uma das cinco bactérias testadas, uma placa para cada solvente de extração. Assim cada ensaio contou com um total de 15 placas. Foram realizados três ensaios.

Figura 19. Ilustração da disposição das soluções na placa de 96 poços.



As placas montadas foram expostas por 2 horas a luz UV, em capela, visando garantir sua esterilização. Em seguida, os poços foram inoculados com 100 µl dos meios de cultura das bactérias. Após 48 horas, incubadas em temperatura ambiente, as placas foram avaliadas quanto a inibição imposta ao crescimento bacteriano. A turbidez indicou que houve ação inibitória sobre as bactérias, conforme realizado por Batista (2012).

O resultado observado foi expresso considerando percentual de inibição, onde cada réplica ($n=4$) de cada concentração, solvente de extração, epifitado ou não, representou 25 % de ação inibitória. Foi feita a média por cepa de bactéria nas diferentes concentrações e diferentes solventes e média geral, onde foram consideradas todas as concentrações e cepas de bactérias para que a inibição bacteriana fosse avaliada como um todo nos diferentes solventes de extração.

5 RESULTADOS

A massa obtida e o rendimento dos extratos brutos epifitados e não epifitados nos diferentes solventes de extração estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Massa e rendimento dos extratos brutos.

Solvente	Epifitas	Peso seco (g)	Massa obtida (g)	Rendimento (%)
Etanol	Não	35,969	0,55	1,52
Etanol	Sim	35,227	2,72	7,73
Diclorometano	Não	35,560	0,11	0,30
Diclorometano	Sim	35,862	0,51	1,42
Aquoso	Não	35,452	0,32	0,90
Aquoso	Sim	35,341	1,92	5,44

Quanto a ação inibitória ao crescimento das bactérias marinhas *Shewanella putrefaciens* (Sw), *Vibrio estuarians* (Vb), *Pseudoalteromonas elyakovii* (Pst), *Polibacter irgensis* (Pc) e *Pseudomonas fluorescens* (Psd), a avaliação nas microplacas confirmou o controle positivo da estreptomicina e demonstrou inibições para os extratos. Houve maior inibição por parte dos extratos não epifitados. No que diz respeito aos solventes de extração, diclorometano apresentou maior ação inibitória e etanol apresentou menor ação inibitória. Dentre as concentrações testadas, a concentração mínima com ação inibidora dos extratos foi de 1 µg/ml sobre todas as bactérias, exceto pelo extrato de etanol com epifitas sobre a bactéria *P. selyakovii*, onde foi 5 µg/ml (Tabela 6).

Tabela 6. Percentual de inibição durante o crescimento bacteriano.

Bactérias	Extratos						Controles	
	EE	AE	DE	ENE	ANE	DNE	+	-
Concentração 1 µg/ml								
<i>P. elyakovii</i>	0	25	75	25	25	100	100	25
<i>P. fluorescens</i>	50	75	25	50	50	100	100	0
<i>S. putrefaciens</i>	100	100	100	75	75	100	100	0
<i>V. estuarians</i>	75	100	100	50	100	100	100	75
<i>P. irgensii</i>	25	75	100	100	100	100	100	50
Concentração 5 µg/ml								
<i>P. elyakovii</i>	75	0	100	100	50	100	100	25
<i>P. fluorescens</i>	25	25	25	0	75	100	100	0
<i>S. putrefaciens</i>	75	100	100	75	50	100	100	0
<i>V. estuarians</i>	25	100	100	50	50	50	100	75
<i>P. irgensii</i>	75	75	100	100	75	100	100	50
Concentração 10 µg/ml								
<i>P. elyakovii</i>	0	0	0	75	0	100	100	25
<i>P. fluorescens</i>	25	75	50	25	100	100	100	0
<i>S. putrefaciens</i>	75	75	100	50	50	75	100	0
<i>V. estuarians</i>	50	75	100	25	50	75	100	75
<i>P. irgensii</i>	100	50	75	25	100	100	100	50
Concentração 25 µg/ml								
<i>P. elyakovii</i>	25	0	0	75	0	100	100	25
<i>P. fluorescens</i>	25	50	75	100	100	100	100	0
<i>S. putrefaciens</i>	50	75	100	25	100	100	100	0
<i>V. estuarians</i>	0	75	100	0	100	100	100	75
<i>P. irgensii</i>	75	75	50	0	100	100	100	50
Concentração 50 µg/ml								
<i>P. elyakovii</i>	25	0	0	75	25	100	100	25
<i>P. fluorescens</i>	0	75	75	100	25	100	100	0
<i>S. putrefaciens</i>	25	100	100	25	25	100	100	0
<i>V. estuarians</i>	0	100	100	0	25	75	100	75
<i>P. irgensii</i>	25	25	0	0	75	100	100	50
Concentração 50 µg/ml								
<i>P. elyakovii</i>	50	0	0	75	0	100	100	25
<i>P. fluorescens</i>	0	0	75	0	75	100	100	0
<i>S. putrefaciens</i>	0	100	50	25	100	75	100	0
<i>V. estuarians</i>	0	100	50	0	100	75	100	75
<i>P. irgensii</i>	25	50	0	0	25	0	100	50

* Etanol epifitado (EE), aquoso epifitado (AE), diclorometano epifitado (DE), etanol não epifitado (ENE), aquoso não epifitado (ANE) e Diclorometano não epifitado (DNE).

O extrato que, em média, apresentou maior ação inibitória, 90,83%, foi o não epifitado, cujo solvente de extração foi o diclorometano. O extrato de etanol com epífitas apresentou menor inibição, em média, 36,67% (Tabela 7).

Tabela 7. Percentual médio de inibição dos extratos sobre as bactérias.

Solvente de extração	Epífitas	Média de inibição
Etanol	Sim	36,67
Etanol	Não	44,17
Aquoso	Sim	59,17
Aquoso	Não	73,33
Diclorometano	Sim	64,17
Diclorometano	Não	90,83

Os dados percentuais do efeito de inibição mostram que os extratos de etanol com e sem epífitas foram os que apresentaram os menores percentuais de inibição sobre as bactérias testadas, em média, de 36,67% e 44,17% respectivamente (Tabela 7). O extrato epifitado apresentou maior ação inibitória sobre as bactérias *S. putrefaciens* (Sw) e *P. irgensis* (Pc), com média de 54,17% de inibição sobre ambas. Já o extrato não epifitado mostrou maior ação inibitória, em média, sobre *P. elyakovii* (Pst) com 70,83% de inibição. As menores ações inibitórias dos extratos de etanol foram sobre as bactérias *P. fluorescens* (Psd), no extrato com epífitas, e *V. estuarians* (Vb), no extrato sem epífitas, ambos com média de 20,83% (Tabela 8).

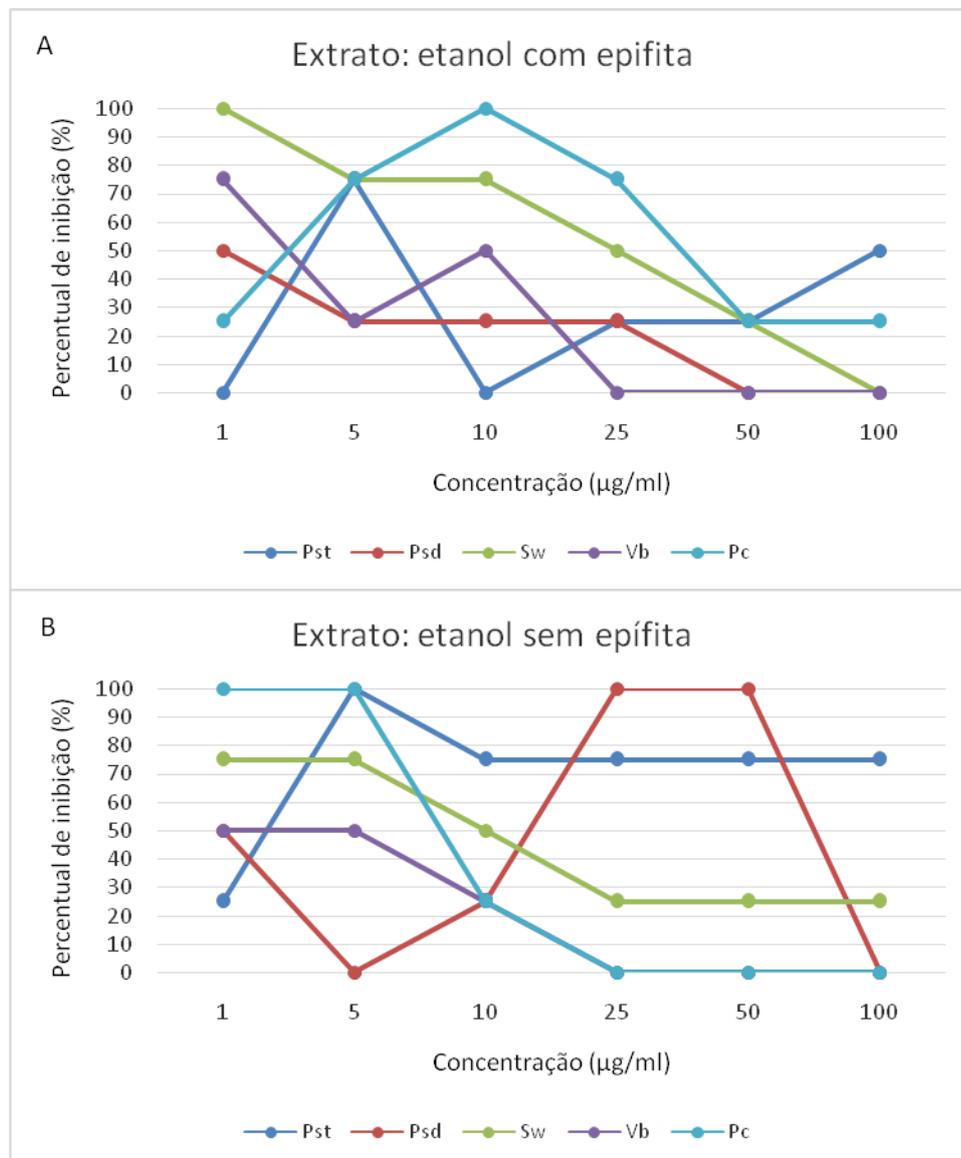
Tabela 8. Percentual médio de inibição dos extratos de etanol sobre as espécies bacterianas.

Bactéria	Extratos de etanol	
	Epifitado	Não epifitado
<i>P. elyakovii</i>	29,17	70,83
<i>P. fluorescens</i>	20,83	45,83
<i>S. putrefaciens</i>	54,17	45,83
<i>V. estuarians</i>	25	20,83
<i>P. irgensis</i>	54,17	37,50

Os gráficos do efeito de inibição, tendo por base de comparação 100% de efeito de inibição obtido pelo controle positivo (estreptomomicina), demonstram que o percentual de inibição dos extratos de etanol epifitados nas diferentes concentrações variou de 0% a 75% sobre *P. elyakovii* (Pst), 0% a 50% sobre *P. fluorescens* (Psd),

0% a 100% sobre *S. putrefaciens* (Sw), 0% a 75% sobre *V. estuarians* (Vb) e de 25% a 50% sobre *P. irgensis* (Pc). Já os extratos de etanol não epifitados apresentaram variação de 25% a 100% sobre *P. elyakovii* (Pst), 0% a 100% sobre *P. fluorescens* (Psd), 25% a 75% sobre *S. putrefaciens* (Sw), 0% a 50% sobre *V. estuarians* (Vb) e de 0% a 100% sobre *P. irgensis* (Pc) (Figura 20).

Figura 20. Percentual de inibição (%) dos extratos de etanol com (A) e sem (B) epífitas sobre as bactérias.



**Shewanella putrefaciens* (Sw), *Vibrio estuarians* (Vb), *Pseudoalteromonas elyakovii* (Pst), *Polibacter irgensis* (Pc) e *Pseudomonas fluorescens* (Psd).

Os extratos aquosos com e sem epífitas apresentaram percentual de inibição sobre as bactérias testadas, em média, de 59,17% e 73,33% respectivamente

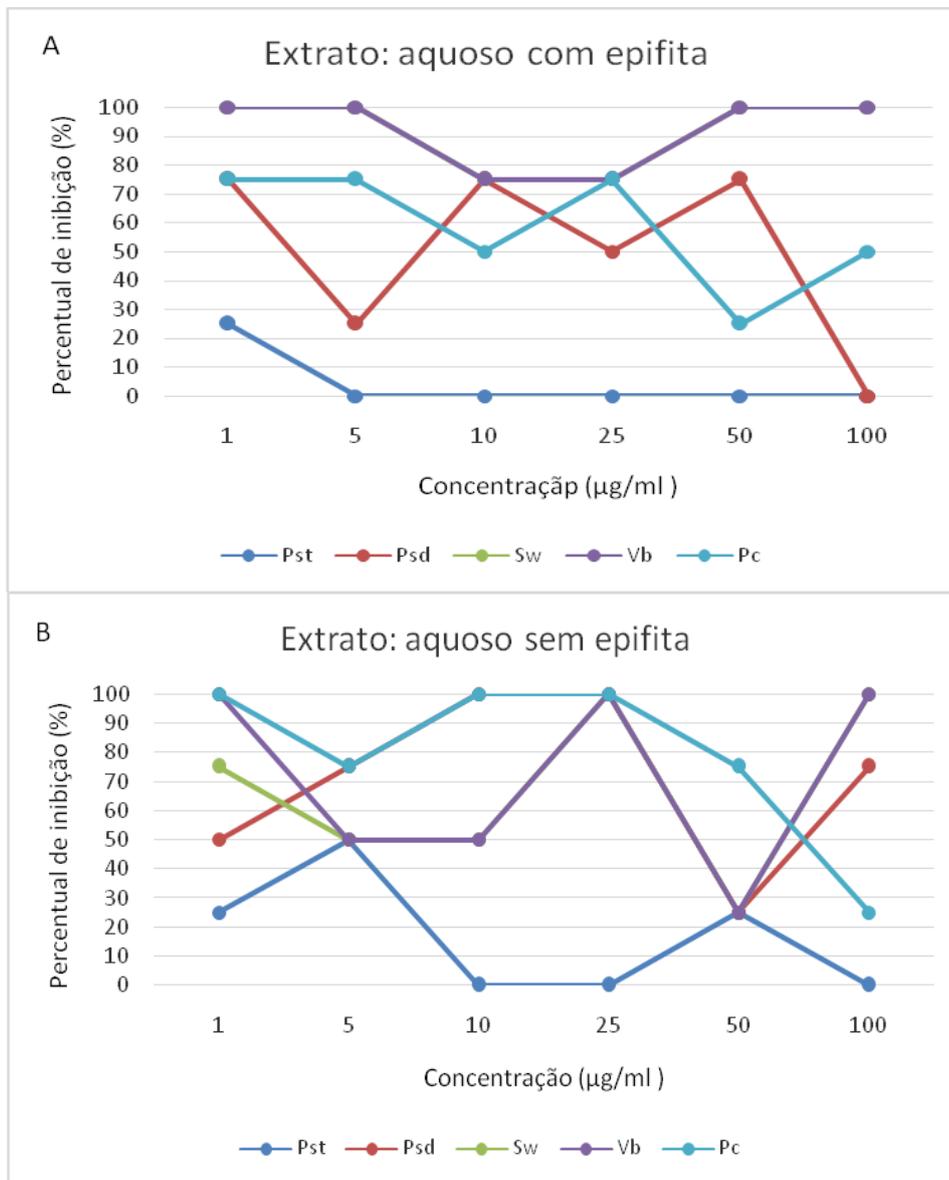
(Tabela 7). O extrato epifitado apresentou maior ação inibitória sobre as *bactérias* *S. putrefaciens* (Sw) e *V.estuarians* (Vb), com média de 91,67% de inibição sobre ambas. Já o extrato não epifitado mostrou maior ação inibitória sobre *P. fluorescens* (Psd) e *V.estuarians* (Vb) com 70,83% de inibição, em média, sobre ambas. O menor percentual de inibição observado nos extratos aquosos sem e com epífitas foi sobre *P. elyakovii* (Pst), com médias, respectivamente, de 16,67% e 4,17%, menor percentual inibitório em todo o experimento (Tabela 9).

Tabela 9. Percentual médio de inibição dos extratos aquosos sobre as espécies bacterianas.

Bactéria	Extratos aquosos	
	Epifitado	Não epifitado
<i>P.elyakovii</i>	4,17	16,67
<i>P. fluorescens</i>	50	100
<i>S. putrefaciens</i>	91,67	100
<i>V. estuarians</i>	91,67	70,83
<i>P. irgensii</i>	58,33	79,17

Os gráficos da ação inibitória, tendo por base de comparação 100% de efeito de inibição obtido pelo controle positivo (estreptomicina), demonstram que a inibição dos extratos aquosos epifitados variou nas diferentes concentrações de 0% a 25% sobre *P. elyakovii* (Pst), 0% a 75% sobre *P. fluorescens* (Psd), 75% a 100% sobre *S. putrefaciens* (Sw), 75% a 100% sobre *V. estuarians* (Vb) e de 25% a 75% sobre *P. irgensii* (Pc). Já os extratos aquosos não epifitados apresentaram variação de 0% a 50% sobre *P. elyakovii* (Pst) e 25% a 100% sobre *P. fluorescens* (Psd), *S. putrefaciens* (Sw), *V. estuarians* (Vb) e *P. irgensii* (Pc) (Figura 21).

Figura 21. Percentual de inibição (%) dos extratos aquosos com (A) e sem (B) epifitas sobre as bactérias.



**Shewanella putrefaciens* (Sw), *Vibrio estuarians* (Vb), *Pseudoalteromonas elyakovii* (Pst), *Polibacter irgensii* (Pc) e *Pseudomonas fluorescens* (Psd).

Os extratos de diclorometano com e sem epifitas apresentaram os maiores percentuais de inibição sobre as bactérias testadas, em média, de 64,17% e 90,83% respectivamente (Tabela 7). O extrato epifitado apresentou maior ação inibitória sobre as bactérias *S. putrefaciens* (Sw) e *V. estuarians* (Vb), com média de 91,67% de inibição sobre ambas. Já o extrato não epifitado mostrou maior ação inibitória sobre *P. fluorescens* (Psd) e *P. elyakovii* (Pst) com média de 100% de inibição sobre ambas. Os menores percentuais de inibição nos extratos de diclorometano foram observados sobre as bactérias *P. elyakovii* (Pst), extrato epifitado, e *V. estuarians*

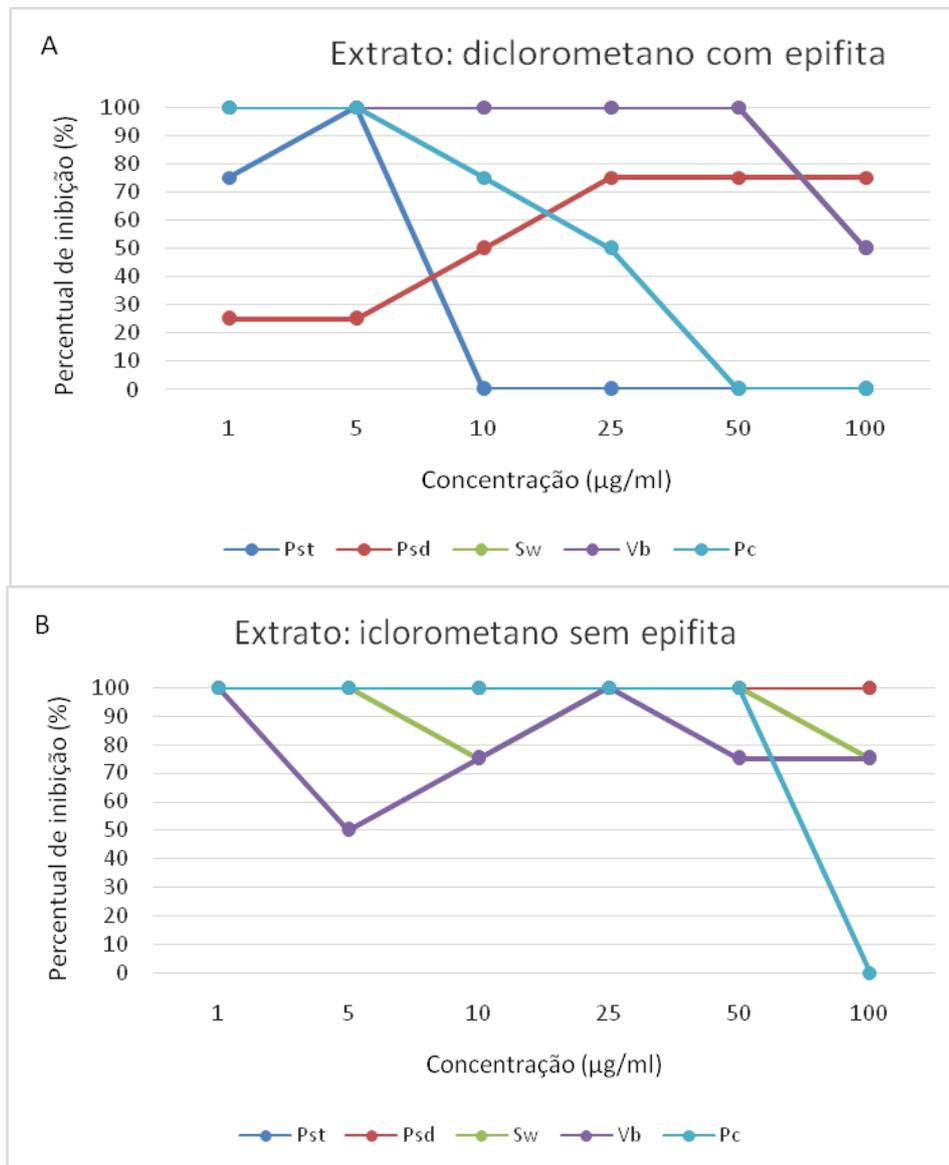
(Vb), extrato não epifitado, com repectivas médias de 29,17% e 79,17% (Tabela 10).

Tabela 10. Percentual médio de inibição dos extratos de diclorometano sobre as espécies bacterianas.

Bactéria	Extratos de diclorometano	
	Epifitado	Não epifitado
<i>P. elyakovii</i>	29,17	100
<i>P. fluorescens</i>	54,17	100
<i>S. putrefaciens</i>	91,67	91,67
<i>V. estuarians</i>	91,67	79,17
<i>P. irgensis</i>	54,17	83,33

Os gráficos do efeito de inibição, tendo por base de comparação 100% de efeito de inibição obtido pelo controle positivo (estreptomicina), demonstram que o percentual de inibição dos extratos de diclorometano epifitados nas diferentes concentrações variou de 0% a 100% sobre *P. elyakovii* (Pst), 25% a 75% sobre *P. fluorescens* (Psd), 50% a 100% sobre *S. putrefaciens* (Sw) e *V. estuarians* (Vb) e de 0% a 100% sobre *P. irgensis* (Pc). Já os extratos diclorometano não epifitados apresentaram 100% de inibição, em todas as concentrações, sobre sobre *P. elyakovii* (Pst) e *P. fluorescens* (Psd), e variou o percentual de inibição de 75% a 100% sobre *S. putrefaciens* (Sw), 50% a 100% sobre *V. estuarians* (Vb) e 0% a 100% sobre *P. irgensis* (Pc) (Figura 22).

Figura 22. Percentual de inibição (%) dos extratos de diclorometano com (A) e sem (B) epífitas sobre as bactérias.



**Shewanella putrefaciens* (Sw), *Vibrio estuarians* (Vb), *Pseudoalteromonas elyakovii* (Pst), *Polibacter irgensii* (Pc) e *Pseudomonas fluorescens* (Psd).

Dentre os extratos, as frações com diclorometano apresentaram maior atividade antibacteriana com concentração mínima inibitória (CIM) de 1 µg/ml, dentre as concentrações testadas, e com inibições de 64,17% e 90,83%, nos extratos com e sem epífitas, respectivamente.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que os extratos de *S.furcatum* apresentaram atividade antibacteriana. A ação inibitória ao crescimento bacteriano do gênero *Sargassum* já foi descrita por Hellio *et al.* (2000, 2001) para extratos de etanol e diclorometano com *Sargassum muticum*, por Plouguerné *et al.* (2010) para *Sargassum vulgare* com extratos de diclorometano e por Zheng *et al.* (2001) com extratos de metanol em *Sargassum fusiforme* e *Sargassum thunbergii*. Em seu estudo, Taskin *et al.* (2007) relatou atividade antibacteriana de alga da família Sargassaceae também com extratos de metanol.

Alguns solventes são específicos no isolamento de substâncias bioativas de determinadas espécies de algas. Karthikaidevi *et al.* (2009) sugerem que determinados solventes são necessários para extrair substâncias antimicrobianas, e deste modo a probabilidade de se constatar ação antibacteriana de produtos naturais aumenta quando se utiliza vários solventes durante os ensaios. Este trabalho testou extratos aquosos, diclorometano e etanol. Os extratos de diclorometano apresentaram maior inibição ao crescimento bacteriano. Trata-se de um solvente considerado pouco polar ou apolar e isto pode indicar natureza apolar dos compostos bioativos de *S.furcatum*. Entretanto, os outros solventes utilizados, água e etanol, também apresentaram atividade antibacteriana, embora possuam diferentes polaridades e logo extraíam compostos bioativos diferentes. Deste modo, as vastas diferenças na natureza dos constituintes químicos encontrados em uma única espécie de alga, impossibilita a utilização de apenas um solvente, que seja capaz de extrair todos os compostos por si próprio (Koz *et al.*, 2009).

Osman *et al.* (2010) e Patra *et al.* (2009), em seus estudos com algas oriundas do Egito e da Índia, respectivamente, relataram que extratos de etanol apresentaram menor eficácia em inibir o crescimento bacteriano, bem como constatado neste estudo. As diferenças no poder de extração nos diferentes solventes pode estar relacionada não apenas ao solvente utilizado na extração, mas com uma série de fatores que interferem no processo, tais como, a espécie de alga examinada, localização, sazonalidade, estado vegetativo, método de extração e por fim, a metodologia utilizada para o ensaio (Salem *et al.*, 2011; Koz *et al.*, 2009). Já foi verificado, por exemplo, diferenças na atividade de extratos com algas frescas e secas, onde todos os organismos teste foram mais sensíveis aos extratos de algas

frescas, possivelmente devido à perda de compostos ativos voláteis durante o processo de secagem das algas (Tuney *et al.*, 2006). Além dos fatores acima referidos, evaporação e solubilidade do extrato também afetam a concentração dos compostos bioativos naturais e por isso a sua eficácia antimicrobiana (Palma, 2011).

Conforme observado no presente trabalho, tem sido relatado que algas pardas são de fato capazes de inibir o crescimento de várias bactérias (Val *et al.*, 2001). O gênero *Sargassum* é conhecido por produzir muitos compostos antibacterianos contra a incrustação e bactérias corrosivas (Plouguerné *et al.*, 2010). Extratos de algas pardas são complexas misturas geralmente compostas majoritariamente por polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos, proteínas, peptídeos, pigmentos, vitaminas, terpenos e esteroides (Balboa *et al.*, 2013). Plouguerné *et al.* (2010) verificou que a atividade de galactoglicerolípido, atestou o potencial de *S. muticum* como fonte de novos compostos inibidores de microincrustação.

Neste estudo, a atividade antibacteriana foi verificada sobre cinco bactérias incrustantes, sendo uma delas também atuante na corrosão. As cepas de bactérias marinhas escolhidas estão entre os organismos envolvidos na formação do biofilme, etapa inicial do processo de bioincrustação (Hölmstrom & Kjellberg, 1994). As cinco cepas de bactérias testadas (*S. putrefaciens*, *V. estuarians*, *P. selyakovii*, *P. irgensis* e *P. fluorescens*) sofreram inibição por parte dos extratos, embora Carvalho (2016) só tenha observado atividade antibacteriana do gênero *Sargassum* apenas para *V. estuarians*, dentre as mesmas bactérias testadas. Corroborando este trabalho, Plouguerné *et al.* (2010) relatou atividade antibacteriana para *V. estuarians* e *P. irgensis* em extratos de *Sargassum vulgare* e Padmakumar e Ayyakkannu (1997) relataram atividades antibacterianas por parte de extratos do gênero *Sargassum* sobre bactérias do gênero *Vibrio*. Thabard *et al.* (2009) também verificou atividade antibacteriana sobre *S. putrefaciens* a partir de extratos de algas pardas da ordem Scytosiphonales e Bhosale *et al.* (2002) relatou atividade antibacteriana de algas pardas da família Dictyotaceae sobre bactérias do gênero *Pseudomonas*. Schwartz *et al.* (2017) relataram que extratos de espécies de *Sargassum* inibiram o crescimento bacteriano em laboratório, incluindo *Shewanella sp.*, embora extratos de uma das espécies da alga tenham estimulado o crescimento.

As cepas de *S. putrefaciens* foram as que mais sofreram inibição por parte dos extratos epifitados, aqueles com menor poder inibitório. Esta bactéria é Gram-

positiva, ou seja, tem parede celular composta principalmente por peptidoglicano sem membrana externa de proteção (Madigan, 1996). Isto permite uma fácil penetração dos compostos bioativos nas células. Tal fato justifica as altas taxas inibitórias dos extratos com menor ação inibitória sobre esta bactéria.

V.estuarians, *P.selyakovii*, *P.irgensis* e *P. fluorescens* são bactérias Gram-negativas, isto é, têm menos peptidoglicano na sua parede celular, e contêm uma membrana externa composta por lipopolissacárideos, lipoproteínas e outras moléculas complexas que tornam a parede celular menos permeável do que a das bactérias Gram-positivas (Madigan, 1996). Não obstante, as bactérias citadas sofreram inibição por parte dos extratos.

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a hipótese de que o epifitismo influenciou (e de forma negativa) na atividade antibacteriana de *S. furcatum*. Observou-se que extratos epifitados tem sua atividade antibacteriana diminuída em relação aos extratos não epifitados. Sendo assim, extratos não epifitados de *S. furcatum*, cujo solvente de extração utilizado seja diclorometano parecem possuir compostos bioativos antibacterianos promissores para a síntese de anti-incrustantes para o desenvolvimento de tintas a base de produtos naturais.

7 CONCLUSÕES

- Os extratos de *Sargassum furcatum* não epifitados apresentaram maior atividade antibacteriana em relação aos epifitados com solvente diclorometano. Os extratos em meio aquoso e de etanol também apresentaram antibacteriana, mas em menor porcentagem.
- Nos extratos não epifitados, as maiores inibições ao crescimento bacteriano foram sobre *P. selyakovii* e *P. fluorescens*, no extrato de diclorometano, *S. putrefaciens* e *V. estuarians*, no extrato aquoso, e *P. selyakovii*, no extrato de etanol.
- As cepas de *S. putrefaciens* foram as que mais sofreram inibição por parte dos extratos epifitados, juntamente com *V. estuarians*, nos extratos de diclorometano e aquoso, e com *P. irgensii*, no extrato de etanol.
- Em geral, a concentração mínima inibitória dos extratos foi de 1 µg/ml sobre todas as bactérias, exceto pelo extrato de etanol com epífitas sobre a bactéria *P. selyakovii*, onde a CIM foi 5 µg/ml.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, D.; CARVALHO, A.P.; COSTA, R. & COUTINHO, R. Extracts of macroalgae from de Brazilian coast inhibit bacterial quorum sensing. *Bot Mar* 57:441-447. 2014.
- BATISTA, W. R. Utilização de glicerofosfolipídios sintéticos análogos do PAF como agnetes anti-incrustantes na composição de tintas marítimas: proposta, síntese, caracterização química e avaliação de performance. Tese de PósGraduação em Química, UFRJ. 2012.
- BALBOA, E.M. CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E. & DOMÍNGUEZ H. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem.* 138(2):1764–1785. 2013.
- BHOSALE, S.H.; NAGLE, V.L. & JAGTAP, T.G. Antifouling potential of some marine organisms from India against species of *Bacillus* and *Pseudomonas*. *Mar Biotechnol* 4: 111-118. 2002.
- CAMPBELL, A.; HARDER, T.; NIELSEN, S.; KJELLEBERG, S. & STEINBERG, P. Climate change and disease: bleaching in a chemically-defended seaweed. *Glob. Chang. Biol.* 17, 2958–2970. 2011.
- CAO, S.; WAHG, J. D.; CHEN, H. S. & CHEN, D. R. Progress of marine biofouling and antifouling technologies. *Chinese Science Bulletin*, v. 56, n. 7, p. 598-612. 2011.
- CARVALHO, A.P.A.M. Macroalgas marinhas e seus microssimbiontes como potencial inibidores de quorum sensing e crescimento bacteriano. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Fluminense. 2016.
- CASTRO, I. B.; WESTPHAL, E. & FILLMANN, G. Tintas anti-incrustantes de terceira geração: Novos biocidas no ambiente aquático, *Quimica Nova*, v. 34, p. 1021-1031. 2011.
- CHAMBERS, S. A. Epitaxial growth and properties of thin Im oxides. *Surface Science Reports*, v. 39 p. 105 - 180, 2000.
- CHAMBERS, L. D.; WHARTONA, J. A.; WOODA, R. J. K.; WALSHA, F. C. & STOKESA, K. R. Techniques for the measurement of natural product incorporation into an antifouling coating. *Progress in Organic Coatings*, v. 77, p. 473-484, 2014.
- CLARE, A.S. Marine natural product antifoulants: status and potential. *Biofouling*. 9: 211–229. 1996.
- DA GAMA, B.A.P., PEREIRA, R.C. & COUTINHO, R. A Bioincrustação Marinha In: PEREIRA, R.C.; SOARES-GOMES, A. *Biologia Marinha*. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009. P. 299-318, 2009.
- DAFFORN, K. A.; LEWIS, J, A. & JOHNSTON, E. L. Antifouling strategies: History

and regulation, ecological impacts and mitigation. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, p. 453–465, 2011.

DAVIES, D.G.; PARSEK, M.R.; PEARSON, J.P., IGLEWSKI, B.H., COSTERTON, J.W. & GREENBERG, E.P. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 280:295–298. 1998.

FERNANDEZ, M. A. & PINHEIRO, F. M. New approaches for monitoring the marine environment: the case of antifouling paints. *Int. J. Environment and Health*, v. 1, p. 427-448, 2007.

GUARDIOLA, F. A.; CUESTA, A.; MESEGUER, J. & ESTEBAN, M. A. Risks of Using Antifouling Biocides in Aquaculture. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 13, p. 1541-1560, 2012.

HAY, M. E. & FENICAL, W. Chemical Ecology and marine biodiversity: Insights and products from the sea. *Oceanography*, v. 9, p. 10-20, 1996.

HELLIO, C. The potential of marine biotechnology for the development of new antifouling solutions. *J. Sci. Hal. Aquat.*, v. 2, p. 35-4, 2010.

HELLIO, C.; BREMER, G.; PONS, A. M.; LE GAL, Y. & BOURGOUGNON, N. Inhibition of the development of microorganisms (bacteria and fungi) by extracts of marine algae from Brittany, France. *Appl Microbiol Biotechnol* 54:543–549. 2000.

HELLIO, C.; THOMAS-GUYON, H.; CULIOLI, G.; PIOVETTI, L.; BOURGOUGNON, N. & LE GAL, Y. Marine antifoulants from *Bifurcaria bifurcata* (Phaeophyceae, Cystoseiraceae) and other brown macroalgae. *Biofouling* 17: 189-201. 2001.

HELLIO, C.; TSOUKATOU, M.; MARECHAL, J.P.; ALDRED, N.; BEAUPOIL, C.; CLARE, A.S.; VAGIAS, C. & ROUSSIS, V. Inhibitory effects of Mediterranean sponge extracts and metabolites on larval settlement of the barnacle *Balanus amphitrite*. *Mar Biotechnol* 7: 297–305. 2005.

HOLMSTROM, C. & KJELLEBERG, S. The effect of external biological factors on settlement of marine invertebrate and new antifouling technology. *Biofouling* 8:147-160. 1994.

IVANOVA, E.P.; ALEXEEVA, Y. N.; ZHUKOVA, N. V.; GORSHKOVA, N.M.; BULJAN, V.; NICOLAU, D.V.; MIKHAILOV, V.V. & CHRISTEN, R. *Bacillus algicola* sp. nov., a novel filamentous organism isolated from brown alga *Fucus evanescens*. *Syst Appl Microbiol* 27:301–307. 2004.

KAMIYA, M.; NISHIO, T.; YOKOYAMA, A.; YATSUYA, K.; NISHIGAKI, T.; YOSHIKAWA, S. & OHKI, K. Seasonal variation of phlorotannin in sargassacean species from the coast of the Sea of Japan. *Phycological Research*, 58: 53-61, 2010.

KARTHIKAIDEVI, G.; MANIVANNAN, K.; THIRUMARAN, G.; ANANTHARAMAN, P. & BALASUBARAMANIAN, T. Antibacterial properties of selected green seaweeds from Vedalai coastal waters; Gulf of Mannar marine biosphere reserve. *Global*

Journal of Pharmacology, v. 3, n. 2, p. 107-112, 2009.

KOZ, F.F.; YAVASOGLU, U.K.; DEMIREL, Z.; SUKATAR, A. & OZDEMIR, G. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Codium fragile* (Suringar) Hariot (Chlorophyta) Essential Oil and Extracts; Asian Journal of Chemistry, 21:1197-1209. 2009.

LAGES, B. G.; FLEURY, B. G. & CREED, J. C. A Review of the Ecological Role of Chemical Defenses in Facilitating Biological Invasion by Marine Benthic Organisms. Studies in Natural Products Chemistry, v. 46, p. 1-26, 2015.

LAGES, B. G.; FLEURY, B. G.; FERREIRA, C. E. L. & PEREIRA, R. C. Chemical defense of an exotic coral as invasion strategy. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 328, p. 127– 135, 2006.

LIMA-FILHO, J. V. M.; CARVALHO, A.F.F.U.; FREITAS, S.M. & MELO, V. M.M. Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern Brazilian coast. Brazilian Journal of Microbiology, v. 33, p. 311-313, 2002.

LITTLE, B.J.; RAY, R.I.; WAGNER, P.A.; JONES-MEEHAN, J.; LEE, C.C. & MANSFELD, F. Spatial relationships between marine bacteria and localized corrosion on polymer coated steel. Biofouling 13(4):301–312.1999.

MARÉCHAL, J.P. & HELIO, C. Antifouling activity against barnacle cypris larvae: Do target species matters (*Amphibalanus amphitrite* versus *Semibalanus balanoides*)? Journal International Biodeterioration & Biodegradation. 65: 92-101, 2010.

MADIGAN, M. T. Brock, Biology of Microorganisms; 8th Edition; Prentice-Hall. 1996.

MESSANO, L. V. R. DE & COUTINHO, R., Variação temporal da comunidade de macroalgas epifitas em *Sargassum furcatum* (Kützting Phaeophyta:Fucales) da Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. I Congresso Brasileiro de Biologia Marinha. Niterói, Rio de Janeiro. 15 a 19 de maio. 2006.

NOGUEIRA-JUNIOR., J.D. Estudo da interações físicas e biológicas na estruturação do fital de *Sargassum furcatum* na Ilha de Cabo Frio. Tese de Doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darci Ribeiro. 2004.

ORNELLAS, A. B. & COUTINHO, R. Spatial and temporal patterns of distribution and abundance of a tropical fish assemblage in a seasonal *Sargassum* bed, Cabo Frio Island, Brazil. Journal of Fish Biology, 53 (A): 198–208. 1998.

OSMAN, M. E. H.; ABUSHADY, A. M. & ELSHOBARY, M. E. In vitro screening of antimicrobial activity of extracts of some macroalgae collected from Abu-Qir bay Alexandria, Egypt. African Journal of Biotechnology, v. 9, n. 12, p. 7203-7208, mar. 2010.

PADMAKUMAR, K. & AYYAKKANNU, K. Antimicrobial activity of some marine algae of Porto Novo and Pond-icherry waters, east coast of India. Indian. Mar.Sei.15: 187-188.1986.

PALMA, D.C. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos metanólicos de diferentes espécies de algas e plantas halófitas. Dissertação de mestrado. Universidade do Algarve. 2011.

PATRA, J. K.; PATRA, A.P.; MAHAPATRA, N.K.; THATOI, H.N., DAS, S.; SAHU, R.K. & SWAIN, G.C. Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. *Malaysian Journal of Microbiology*, v. 5, n. 2, p. 128-131, 2009.

PAUL, V.J. & PUGLISI, M.P. Chemical mediation of interactions among marine organisms. *Natural Product Reports*, 21: 189–209.2004.

PEREIRA, R.C. Ecologia Química Marinha. In: PEREIRA, R.C. & SOARES-GOMES, A. *Biologia Marinha*. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009. p. 473-504. 2009.

PEREIRA, R. C.; DA GAMA, B. A. P. Macroalgal Chemical Defenses and Their Roles in Structuring Tropical Marine Communities. *Algal Chemical Ecology*, p. 25- 55, 2008.

PLOUGUERNÉ, E.; IOANNOU, E.; GEORGANTEA, P.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V.; HELLIO, C.; KRAFFE, E. & STIGER-POUVREAU, V. Anti-microfouling activity of lipidic metabolites from the invasive brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Mar Biotech* 12:52–61, 2010.

RÍOS, N.; Medina, G.; Jiménez, J.; Yáñez, C.; García, M.Y.; Di Bernardo, M.L. & Gualtieri, M. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas venezolanas. *Revista peruana de biología*, v. 16, n. 1, p. 97- 100, ago. 2009.

SALEM, W. M.; GALAL, H. & NASR EL-DEEN, F. Screening for antibacterial activities in some marine algae from the red sea (Hurghada, Egypt). *African Journal of Microbiology Research*, v. 5, n. 15, p. 2160-2167, aug. 2011.

SCHWARTZ, N.; DOBRETISOV, S.; ROHDE, S. & SCHUPP, P.J. Comparison of antifouling properties of native and invasive *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) species. *European Journal of Phycology*. 2017.

SMIT, A.J. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *J Appl Phycol* 16: 245-262. 2004.

TARJEULO, I.; LOPEZ–LEGENTIL, S.; CODINA, M. & TURON, X. Defence mechanisms of adults and larvae of colonial ascidians: patterns of palatability and toxicity. v. 235, p. 103–115, 2002.

TASKIN, E.; OZTURK, M. & KURT, O. Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (24), pp. 2746-2751. 2007.

THABARD, M.; GROS, O.; HELLIO, C. & MARE, J. *Sargassum polyceratium* (Phaeophyceae - Fucaceae) surface molecule activity towards fouling organisms and embryonic development of benthic species. *Bot Mar* 54:147–157. 2011.

TUNEY, I.; CADIRCI, B. H.; UNAL, D. & SUKATAR A. Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Üzmir, Turkey); Turk J Biol, 30: 171-175. 2006.

VAL, A.G.D.; Platas, G. & Basilio, A. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands , Spain). Int Microbiol 4:35– 40. 2001.

YEBRA, D. M.; KIIL, S.; DAM-JOHANSEN, K.. Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. Progress in organic coatings, v. 50, n. 2, p. 75-104, 2004.

ZHENG,Y.; CHEN, Y. & LU, H. Screeeing for antibacterial and antifungal activies in some marine algae from the Fujian Cost of China with three different solvents. Chinese Journal of Oceanology and Limnology Vol.19, No.4, P.327-331, 2001.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dois capítulos da presente dissertação abordaram os parâmetros populacionais e a caracterização dos epibiontes de *Sargassum furcatum* da Ilha de Cabo Frio em um ciclo sazonal, além de testes de atividade antibacteriana da macroalga e suas epífitas

Em Arraial do Cabo, é amplamente conhecido o aumento considerável de biomassa na primavera e no verão que a alga *S. furcatum* costuma apresentar e a formação de um extenso banco sazonal sobre o arenito da Praia do Farol na Ilha do Cabo Frio. Entretanto, durante alguns anos, o banco não apresentou biomassa significativa no verão. O presente estudo mostrou o primeiro crescimento do banco após esse colapso. Os resultados indicaram que no verão de 2015, o banco de *S. furcatum* voltou a apresentar um crescimento e aumento de biomassa significativo mostrando sua alta resistência e resiliência e que as epífitas acompanharam o padrão de crescimento e senescência do banco.

Em termos de atividade antibacteriana, o presente estudo mostrou que os extratos brutos de *S.furcatum* nos diferentes solventes de extração testados (aquoso, etanol e diclorometano) apresentaram atividade inibitória. O epifitismo influenciou, de forma negativa, a ação dos extratos sobre as cepas de bactéria utilizadas. Este estudo mostrou que extratos não epifitados de *S. furcatum*, cujo solvente de extração utilizado seja diclorometano apresentaram maior poder inibitório sobre o crescimento bacteriano. Conhecendo o importante papel que o crescimento de bactérias e a formação do biofilme tem na fase inicial da bioincrustação, tal extrato deve possuir compostos bioativos antibacterianos promissores para a síntese de anti-incrustantes para o desenvolvimento de tintas a base de produtos naturais.

O presente trabalho reitera que a espécie de *Sargassum* estudada apresenta potencial biotecnológico e que a alta biomassa da alga encontrada na natureza pode permitir testes mais aprofundados de bioatividade.