



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Amanda Guilherme da Silva

**Respostas a distúrbios ambientais: o uso de
esponjas marinhas como modelo biológico**

Rio de Janeiro
2018

Amanda Guilherme da Silva

**Respostas a distúrbios ambientais:
o uso de esponjas marinhas como modelo biológico**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Beatriz Grosso Fleury

Coorientadora: Prof.^a Dra. Gisele Lôbo Hajdu

Rio de Janeiro

2018

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

S586 Silva, Amanda Guilherme da.
Respostas a distúrbios ambientais: o uso de esponjas
marinhas como modelo biológico. – 2018.
176 f. : il.

Orientadora: Beatriz Grosso Fleury
Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Universidade do
Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara
Gomes.

1. Esponja - Teses. 2. Impacto ambiental - Teses. 3.
Indicadores ambientais - Teses. I. Fleury, Beatriz Grosso. II.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia
Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 593.4

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 -Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial
desta tese, desde que citada a fonte

Assinatura

Data

Amanda Guilherme da Silva

**Respostas a distúrbios ambientais:
o uso de esponjas marinhas como modelo biológico**

Tese apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-graduação em Ecologia e
Evolução, da Universidade do Estado do Rio
de Janeiro.

Aprovada em 27 de abril de 2018.

Banca Examinadora

Prof.^a Dra. Beatriz Grosso Fleury (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Joel Christopher Creed
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Guilherme Ramos da Silva Muricy
Museu Nacional - UFRJ

Prof.^a Dra. Valeria Laneuville Teixeira
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Andrea de Oliveira Ribeiro Junqueira
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2018

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese ao
meu pai, Luiz, a pessoa que
mais acreditou em mim.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por iluminar meus caminhos e me dar forças pra chegar até aqui.

A minha família por estar sempre comigo, me apoiando de alguma forma. Em especial a minha mãe Cristina, o grande amor da minha vida. E a minha cachorrinha Amora que ficou literalmente ao meu lado durante toda a escrita da tese.

Ao meu marido Victor, que não só me apoiou mas esteve ao meu lado sempre, indo aos campos, me ajudando com as análises. Sem você essa tese também não tinha saído. Muito obrigada!

As minhas orientadoras Prof^a. Dr^a. Beatriz Fleury e Prof^a. Dr^a. Gisele Lôbo-Hajdu, obrigada pelo apoio, compreensão, conversas, ensinamentos, discussões, reuniões de quatro horas. Obrigada por acreditarem em mim e me incentivarem sempre.

Um agradecimento especial também ao Professor Dr. Marcelo Tappin, da Fiocruz, obrigada pela paciência, pelas discussões, conversas, ensinamentos sobre química; e ao Professor Dr. Vinícius Neres (Vini), obrigada por sempre tentar me acalmar, me passar seus ensinamentos em estatísticas, pelas discussões. Se pudesse ter mais dois orientadores, com certeza seriam vocês.

Aos meus amigos de laboratório do Lemb e Lemarqui, obrigada pelas reuniões, discussões científicas e apoio. Em especial as pessoas que também me ajudaram nos meus milhões de campos e dados: Ana Lea, Bia, Victor, Herick, Igor, Rafael, Erika; vocês são demais!

Aos meus amigos de coração que a UERJ me deu, obrigada pelo apoio moral, psicológico, conversas, carinhos e também pela ajuda braçal: Juju, Yoyo, Lari, Mari, Fernanda, Humberto, Maurício, Fabrine e a todos os outros furões assumidos... vocês tornaram esses quatro anos bem mais felizes.

Aos barqueiros Caio e Sr. Junior, vocês diversas vezes fizeram muito mais do que o trabalho de vocês permitia, muito obrigada!

Aos amigos da Fiocruz: Jun, Rafa, Beth, Virginia Suelen, Vinícius, Elizete: muito obrigada por me ajudarem nessa jornada, vocês são muito especiais. E ao Núcleo de Cromatografia I, Serviço de Métodos Analíticos de Farmanguinhos-Fiocruz, obrigada pelo apoio e infra-estrutura.

Aos amigos do DGen, principalmente os técnicos: Val, Marcinha e Cid, obrigada pela paciência, ensinamentos e apoio.

Ao Professor Dr. Fábio Araújo, Prof^a. Dr^a. Flávia e seus alunos, obrigada por abrirem as portas dos seus laboratórios, e disponibilizarem seu tempo para me ensinar técnicas e colaborar com nosso trabalho.

Ao Professor Dr. Joel Creed, obrigada por aceitar ser meu revisor e membro da minha banca. Você também contribuiu muito para minha caminhada, desde a graduação como meu orientador. Agradeço a disponibilidade, sabedoria e sempre boas contribuições.

Aos membros da banca: Prof^a. Dr^a. Andrea Junqueira, Prof. Dr. Guilherme Muricy, Prof^a. Dr^a. Valéria Teixeira, Prof^a. Dr^a. Lenize Maia e Prof. Dr. Bruno Masi, obrigada por aceitarem participar da minha banca, por todos os ensinamentos e atenção concedidas.

Aos docentes e discentes do PPGEE, obrigada pelos ensinamentos, conversas de corredores sempre acrescentando um pouco mais nessa caminhada.

A Soninha e a Verusca, obrigada por me aturarem pedindo dinheiro para campo, e por me ajudarem com as burocracias. Vocês são uns amores!

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPERJ, agradeço pelas bolsas de estudo e financiamento da pesquisa.

Ao senhor presidente Michel Temer e ao governador Luiz Fernando Pezão, obrigada, pois, apesar de terem sucateado as nossas Universidades Públicas, apesar de cortarem cada vez mais verbas da educação, ciência e tecnologia, vocês foram suficientemente incompetentes para não impedir a realização desta tese....Aos trancos e barrancos, conseguimos! A nossa Pós Graduação agora é nível seis. E não vamos desistir, a UERJ vale a luta. A UERJ resiste!

Por fim, obrigada a todos que de alguma forma me ajudaram a chegar até aqui, serei eternamente grata!

Dependemos da Natureza não apenas para a nossa sobrevivência física. Também precisamos dela para que nos ensine o caminho pra casa, o caminho de saída da prisão de nossa mente. Nos perdemos no fazer, no pensar, no recordar e esquecemos aquilo que as rochas, plantas e animais já sabem. Nos esquecemos de ser.

Eckhart Tolle

RESUMO

SILVA, Amanda Guilherme da. *Respostas a distúrbios ambientais: o uso de esponjas marinhas como modelo biológico*. 2018. 177 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

As esponjas são importantes componentes dos ecossistemas marinhos tropicais e são consideradas boas indicadoras ecológicas e produtoras de compostos bioativos. Nesse contexto, os objetivos desse estudo foram: apresentar lacunas nos estudos de revisão sobre as principais respostas das esponjas a determinados distúrbios ambientais; realizar um estudo aplicado correlacionando um índice relativo de impacto ambiental (IRIA) às respostas metabólicas de duas esponjas na Baía de Ilha Grande, *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 e *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864), observando ainda, se esse índice pode ser considerado uma variável preditora a outros fatores comumente testados em avaliações ambientais; avaliar as respostas da esponja *D. anchorata* aos distúrbios ambientais: exclusão de predadores, enriquecimento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*), sombreamento por meio de crescimento e produção de metabólitos secundários; e avaliar a existência de *trade-off* entre o crescimento e a produção química de *D. anchorata*. O capítulo de revisão detectou que, até o momento, os estudos são geograficamente concentrados, e que as respostas estão muito restritas a crescimento e abundância das esponjas. Isso mostra a importância de integração desses resultados à dinâmica de produção de defesas químicas. Houve relação positiva entre a concentração de nutrientes e o IRIA. A análise por espectroscopia Raman *in situ*, dos tecidos manipulados de *D. anchorata*, revelou diferenças na sua composição química entre os ambientes que possuíam IRIA mais altos e mais baixos, porém o mesmo não foi observado para a composição de metabólitos de *M. angulosa*. Foi observada uma variação temporal nas taxas de crescimento no período de 131 dias dos bioensaios. Os esteróis (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5-en-3-ol, (3 β)-ergosta-5-en-3-ol, (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol, (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol, (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol, e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (3 β ,24*Z*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, colesta-5-en-3-ona mostraram-se eficientes como biomarcadores de estresses por enriquecimento de nutrientes, exclusão de predadores e pelo sombreamento. *Desmapsamma anchorata* não apresentou relação significativa entre produção metabólica e crescimento. Os resultados indicam o uso de *D. anchorata* como modelo biológico por ser capaz de detectar mudanças nas comunidades marinhas bênticas.

Palavras-chave: Bioindicador. Índice relativo de impacto ambiental. *Desmapsamma anchorata*. *Top-down* x *bottom-up*. Sombreamento. Crescimento. Metabólitos secundários. Porifera. Brasil

ABSTRACT

SILVA, Amanda Guilherme da. *Responses to environmental disturbances: the use of marine sponges as a biological model*. 2018. 177 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Sponges are important components of tropical marine ecosystems and are considered to be good ecological indicators and producers of bioactive compounds. In this context, the objectives of this study were: to present gaps in the review studies on the responses of sponges to certain environmental disturbances; to perform an applied study correlating an environmental impact relative index (EIRI) to the metabolic responses of two sponges in Ilha Grande Bay, *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 and *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864), also observing if this index can be considered a predictive variable to other factors commonly tested in environmental assessments; to evaluate the responses of the *D. anchorata* sponge to environmental disturbances: exclusion of predators, nutrient enrichment (top-down and bottom-up), shading through growth and production of secondary metabolites; and to evaluate the existence of a trade-off between growth and chemical production of *D. anchorata*. In situ Raman spectroscopy analysis of the manipulated tissues of *D. anchorata* revealed differences in their chemical composition between the environments with the highest and lowest EIRI, but the same was not observed for the metabolite composition of *M. angulosa*. The review chapter found that, to date, studies are geographically concentrated, and that responses are very restricted to sponge growth and abundance. This shows the importance of integrating these results into the dynamics of production of chemical defenses. There was a positive relationship between nutrient concentration and EIRI. In situ Raman spectroscopy analysis of the manipulated tissues of *D. anchorata* revealed differences in their chemical composition between the environments with the highest and lowest EIRI, but the same was not observed for the metabolite composition of *M. angulosa*. A temporal variation was observed in the growth rates in the 131-day bioassay period. The sterols (3 β ,22 E)-colest-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colest-5-en-3-ol, (3 β)-ergost-5-en-3-ol, (3 β ,24 Z)-24-propylidene-colesta-5-en-3-ol, (3 β ,22 E)-ergost-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colest-5,24-dien-3-ol, (3 β ,22 E)-stigmast-5,22-dien-3-ol, e (3 β ,24 E)-stigmast-5,24(28)-dien-3-ol, (3 β ,24 Z)-stigmast-5,24(28)-dien-3-ol, colesta-5-en-3-one were shown to be efficient as stress biomarkers for nutrient enrichment, exclusion of predators and by shading. *Desmapsamma anchorata* showed no significant relationship between metabolic production and growth. The results indicate the use of *D. anchorata* as a biological model to detect changes in benthic marine communities.

Keywords: Bioindicator. Environmental impact relative Index. *Desmapsamma anchorata*. Top-down vs. bottom-up. Shading. Growth. Secondary metabolites. Porifera. Brazil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Porcentagem de artigos sobre respostas de esponjas a distúrbios ambientais em diferentes continentes.....	27
Figura 2 –	Diferentes efeitos negativos causados pelo aumento da temperatura da água do mar em esponjas.....	28
Figura 3 –	Diferentes efeitos causados pelo aumento de nutrientes na água do mar em esponjas.....	33
Figura 4 –	Diferentes efeitos causados pelo aumento da sedimentação na água do mar em esponjas.....	35
Figura 5 -	Diferentes efeitos causados pela redução de luminosidade em comunidades de esponjas.....	39
Figura 6 –	Diferentes efeitos causados pela perda de predadores em comunidades de esponjas.....	41
Figura 7 -	Locais de estudo na Baía de Ilha Grande, RJ.....	54
Figura 8 -	Índice Relativo de Impacto Ambiental para os 13 locais de estudo.....	61
Figura 9 -	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação a quantidade de nutrientes e os níveis de impacto.....	64
Figura 10 –	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação a comunidade bentônica e os níveis de impacto.....	67
Figura 11 –	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação a assembleia de peixes e os níveis de impacto.....	70
Figura 12 –	Área de ocupação das populações de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 e <i>Mycale angulosa</i> (Duchassaing e Michelotti, 1864) nos treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande.....	71

Figura 13 -	Espectros Raman <i>in situ</i> com linha de excitação em 1064 nm da esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 coletada nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande, RJ.....	73
Figura 14 -	Espectros Raman <i>in situ</i> com linha de excitação em 1064 nm da esponja <i>Mycale angulosa</i> (Duchassaing e Michelotti, 1864) coletada nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande, RJ.....	75
Figura 15 -	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico das esponjas <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 e os níveis de impacto.....	77
Figura 16 -	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico e a área de ocupação das esponjas <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882.....	78
Figura 17 -	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico das esponjas <i>Mycale angulosa</i> (Duchassaing e Michelotti, 1864) e os níveis de impacto.....	79
Figura 18 -	Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico e a área de ocupação das esponjas <i>Mycale angulosa</i> (Duchassaing e Michelotti, 1864).....	80
Figura 19 -	Esquema do desenho amostral do bioensaio <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i> sobre a esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> na Baía de Ilha Grande.....	90
Figura 20 -	Réplicas do bioensaio de <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i> sobre a esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 na Baía de Ilha Grande.....	91
Figura 21 -	Esquema do desenho amostral do bioensaio de sombreamento sobre a esponja <i>Desmapsamma anchorata</i>	

	Carter, 1882 na Baía de Ilha Grande.....	92
Figura 22 -	Réplicas do bioensaio de sombreamento sobre a esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 na Baía de Ilha Grande.....	93
Figura 23 -	Exemplo de cálculo de área de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no software Coral Point.....	94
Figura 24 -	Exemplo de crescimento de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 durante o experimento de <i>top-down</i> (exclusão de predação) x <i>bottom-up</i> (enriquecimento de nutrientes).....	96
Figura 25 -	Crescimento em volume médio de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 durante o experimento de <i>top-down</i> (exclusão de predação) x <i>bottom-up</i> (enriquecimento de nutrientes) (+ erro padrão).....	97
Figura 26-	Taxa média de crescimento de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 durante o experimento de <i>top-down</i> (exclusão de predação) x <i>bottom-up</i> (enriquecimento de nutrientes) (+ erro padrão).	98
Figura 27 -	Exemplo de crescimento de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 durante o experimento de <i>top-down</i> (exclusão de predação) x <i>bottom-up</i> (enriquecimento de nutrientes).....	99
Figura 28 -	Crescimento em volume médio de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 durante o experimento de sombreamento (+ erro padrão).	100
Figura 29 -	Taxa média de crescimento de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 durante o experimento de sombreamento (+ erro padrão).	101
Figura 30 -	Exemplo de espectro “amostra controle” utilizada como controle da injeção das amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882.	111
Figura 31 -	Análise de Agrupamento do tempo inicial das amostras da esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 nos experimentos <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i>	114

Figura 32 -	Análise de Agrupamento do tempo final das amostras da esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no experimento <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i>	115
Figura 33 -	Abundância das substâncias encontradas nas amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no tratamento controle dos experimentos <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i> e de sombreamento.....	116
Figura 34 -	Abundância das substâncias encontradas nas amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> , Carter, 1882 no tratamento com enriquecimento de nutrientes, e controle de artefato do tratamento com enriquecimento de nutrientes, dos experimentos <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i>	117
Figura 35 -	Abundância das substâncias encontradas nas amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no tratamento com exclusão de predação e controle de artefato do tratamento com exclusão de predação dos experimentos <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i>	118
Figura 36 -	Abundância das substâncias das amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no tratamento e controle de artefato dos experimentos exclusão de predação + enriquecimento de nutrientes (<i>top-down</i> x <i>bottom-up</i>).....	119
Figura 37 -	Análise de Agrupamento do tempo inicial das amostras da esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no experimento de sombreamento.....	123
Figura 38 -	Análise de Agrupamento do tempo final das amostras da esponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 no experimento de sombreamento.....	124
Figura 39 -	Abundância das substâncias encontradas nas amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882, no tratamento com sombreamento e controle de artefato do tratamento.....	125
Figura 40 -	Diferentes padrões de alocação de recursos de acordo com diferentes pressões ambientais (modificado de Cronin, 2001).....	133

Figura 41 -	Quadro hipotético sobre diferentes formas de alocação de recursos referentes aos fatores exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (modificado de Cronin 2001)...	135
Figura 42 -	Índices de respostas das taxas de crescimento das esponjas <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 submetidas aos seguintes tratamentos: Interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação, enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação) em relação ao tratamento controle.....	139
Figura 43 -	Índices respostas da produção química das esponjas <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 submetidas aos tratamentos: Interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação, enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação) em relação ao tratamento controle.....	140

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Locais de estudo com coordenadas geográficas.....	54
Tabela 2 –	Fatores potencialmente impactantes para cada local de estudo na Baía de Ilha Grande (RJ).....	62
Tabela 3 –	Concentração de nutrientes observada nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande.....	63
Tabela 4 –	Dados de estrutura de comunidades bentônicas para os diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.....	65
Tabela 5 –	Porcentagem de grupos taxonomicos encontrados nos diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.....	66
Tabela 6 –	Porcentagem de níveis tróficos encontrados nas assembleias de peixes nos diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, RJ.....	68
Tabela 7 –	Dados de estrutura de comunidades bentônicas para os diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.....	69
Tabela 8 –	Resultados das análises estatísticas entre os tratamentos controle e controle de artefato.....	95
Tabela 9 –	Resultados das análises estatísticas entre os tratamentos do experimento de <i>top-down</i> (exclusão de predação) x <i>bottom-up</i> (aumento de nutrientes).....	98
Tabela 10 -	Substâncias identificadas nas amostras de <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882 nos experimentos <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i> e de sombreamento.....	112
Tabela 11 -	Resultados do teste T pareado de cada substância no experimento de <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i>	120
Tabela 12 -	Resultados do teste T pareado de cada substância no experimento de sombreamento.....	126

Tabela 13 -	Resultados testes T entre os índices de respostas da taxa de crescimento e produção química da esponja <i>Desmpasamma anchorata</i> Carter, 1882, submetida aos tratamentos em relação ao tratamento controle.....	141
-------------	--	-----

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL	19
1	ESPONJAS MARINHAS E SUAS RESPOSTAS A DISTÚRBIOS	
	AMBIENTAIS: uma revisão.....	23
1.1	Introdução.....	23
1.2	Material e Métodos.....	26
1.3	Resultados	26
1.3.1	<u>Temperatura</u>	<u>28</u>
1.3.2	<u>Nutrientes.....</u>	<u>33</u>
1.3.3	<u>Sedimentação</u>	<u>35</u>
1.3.4	<u>Luminosidade.....</u>	<u>38</u>
1.3.5	<u>Predação</u>	<u>40</u>
1.3.6	<u>Interações entre fatores- Poluição.....</u>	<u>43</u>
1.3.7	<u>Esponjas como bioindicadores no Brasil.....</u>	<u>44</u>
1.4	Considerações finais	48
2	RESPOSTA DAS COMUNIDADES MARINHAS E POPULAÇÕES DE	
	ESPONJAS (DEMOSPONGIAE) AO LONGO DE DIFERENTES	
	GRADIENTES DE IMPACTO AMBIENTAL	49
2.1	Introdução	49
2.2	Objetivo geral	52
2.2.1	<u>Objetivos específicos.....</u>	<u>52</u>
2.3	Hipóteses	52
2.4	Material e Métodos	53
2.4.1	<u>Área de estudo.....</u>	<u>53</u>
2.4.2	<u>Caracterização dos locais de acordo com os graus de impacto</u>	<u>55</u>
2.4.3	<u>Análise de nutrientes da água</u>	<u>56</u>
2.4.4	<u>Levantamento das comunidades bentônicas submetidas a diferentes</u>	
	<u>graus de distúrbios ambientais</u>	<u>57</u>
2.4.5	<u>Levantamento das assembleias de peixes</u>	<u>58</u>
2.4.6	<u>Levantamento da área de ocupação das populações de esponja</u>	<u>59</u>
2.4.7	<u>Análise do perfil químico das esponjas</u>	<u>59</u>
2.5	Resultados	60

2.5.1	<u>Caracterização dos locais de acordo com os graus de impacto</u>	60
2.5.2	<u>Análise de nutrientes da água</u>	63
2.5.3	<u>Levantamento das comunidades bentônicas submetidas a diferentes graus de distúrbios ambientais</u>	64
2.5.4	<u>Levantamento das assembleias de peixes</u>	67
2.5.5	<u>Levantamento da área de ocupação das populações de esponja</u>	70
2.5.6	<u>Análise do perfil químico das esponjas</u>	71
2.6	Discussão	80
2.7	Conclusão	84
3	ANÁLISE EXPERIMENTAL DE DISTÚRBIOS AMBIENTAIS SOBRE O CRESCIMENTO DA ESPONJA MARINHA <i>DESMAPSAMMA ANCHORATA</i>	85
3.1	Introdução	85
3.2	Objetivo geral	87
3.2.1	<u>Objetivos específicos</u>	87
3.3	Hipóteses	88
3.4	Material e Métodos	88
3.4.1	<u>Experimento de <i>top-down</i> x <i>bottom-up</i> e sombreamento</u>	88
3.4.2	<u>Análise das taxas de crescimento</u>	93
3.5	Resultados	95
3.6	Discussão	101
3.7	Conclusão	104
4	EFEITO DOS DISTÚRBIOS AMBIENTAIS SOBRE A PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA ESPONJA MARINHA <i>DESMAPSAMMA ANCHORATA</i>	105
4.1	Introdução	105
4.2	Objetivo geral	106
4.2.1	<u>Objetivos específicos</u>	107
4.3	Hipóteses	107
4.4	Material e Métodos	108
4.4.1	<u>Preparo de amostra</u>	108
4.4.2	<u>Análise do perfil químico das esponjas</u>	108
4.4.3	<u>Análise dos dados</u>	109

4.5	Resultados	110
4.6	Discussão	127
4.7	Conclusão	131
5	ALOCAÇÃO DE RECURSOS NA ESPONJA MARINHA DESMAPSAMMA ANCHORATA NA BAÍA DE ILHA GRANDE: CRESCIMENTO VS PRODUÇÃO QUÍMICA	132
5.1	Introdução	132
5.2	Objetivo geral	136
5.2.1	<u>Objetivos específicos</u>	136
5.3	Hipóteses	137
5.4	Material e Métodos	137
5.5	Resultados	138
5.6	Discussão	141
5.7	Conclusão	144
	CONCLUSÃO GERAL	145
	REFERÊNCIAS	147
	APÊNDICE A - Principais táxons/grupos funcionais ocupadores de espaço nos 13 locais monitorados na Baía da Ilha Grande. Os dados são médios em porcentagem (%) ($\pm$ erro padrão).....	169
	APÊNDICE B - Assembleia de peixes encontradas nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande. Dados em porcentagem (%)	173
	APÊNDICE C - Análise por espectroscopia Raman <i>in situ</i> da <i>D.</i> <i>anchorata</i> coletada em 13 locais na Baía de Ilha Grande, RJ. Tentativa de assinalamento das bandas Raman (cm^{-1}) com linha de excitação em 1064nm	175
	APÊNDICE D - Análise da espécie por espectroscopia Raman <i>in situ</i> da <i>M. angulosa</i> coletada em locais não impactados na Baía de Ilha Grande, RJ. Tentativa de assinalamento das bandas Raman (cm^{-1}) com linha de excitação em 1064nm.....	176

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos diversos trabalhos tem demonstrado a importância das esponjas nas comunidades bentônicas evidenciando tanto seu papel funcional (BELL 2008; DE GOEIJ et al. 2013; PAWLIK et al. 2016), quanto a sua relação com outros organismos (WULFF 1997; AERTS 1998; SILVA et al. 2017). As esponjas podem influenciar substancialmente a sobrevivência dos corais, a qualidade, filtragem e química da água dos recifes, e o equilíbrio do carbonato, podendo causar alterações no ambiente (DIAZ e RÜTZLER 2001; BELL et al. 2013; PAWLIK et al. 2016).

Esses organismos são considerados bons indicadores ecológicos e são comumente utilizados como biomonitores de estresse ambiental, por serem sésseis e altamente sensíveis às variações ambientais (MURICY 1989; ALCOLADO 2007). Além de processarem grandes quantidades de água, elas apresentam ampla distribuição, e são adaptadas a nichos ecológicos variados, crescendo através de uma variedade de substratos duros, que se estendem desde as zonas entremarés até o mar profundo (CEBRIAN et al. 2007). As esponjas também se alimentam de microrganismos do plâncton, como bactérias heterotróficas e fotossintéticas (PEREA-BLÁZQUEZ et al. 2012). Esses microrganismos estão envolvidos na transformação e no processamento de nutrientes inorgânicos dissolvidos, antes de se tornarem disponíveis para outros organismos marinhos (DE GOEIJ et al. 2013; PAWLIK et al. 2016). Como resultado da alimentação de esponjas e do metabolismo das partículas, as esponjas excretam resíduos inorgânicos e orgânicos dissolvidos de volta para a coluna de água e, portanto, são contribuintes importantes para a ciclagem de nutrientes (PEREA-BLÁZQUEZ et al. 2012; PAWLIK et al. 2016).

Sabe-se, que de uma maneira geral, as comunidades são controladas por uma série de complexas interações entre os fatores biológicos e físicos, como pressão de predação (*top-down*) e disponibilidade de nutrientes (*bottom-up*) (SMITH et al. 2001; SANTOS 2013; PAWLIK et al. 2018), que são responsáveis por manter os padrões de biodiversidade nesses ambientes. Alterações desses fatores podem conduzir a mudanças substanciais na função e na estrutura das comunidades bentônicas. Outros fatores abióticos, tais como dinâmica de ondas,

temperaturas extremas, água doce, luz UV, luz solar em comprimentos de onda fotossinteticamente úteis, abundância e composição de picoplâncton, e sedimentação também podem influenciar no habitat, profundidade, distribuição latitudinal e abundância de esponjas (WULFF 2012; WULFF 2016). Porém, as mudanças que estão ocorrendo nos ecossistemas marinhos costeiros estão gerando perguntas que revelam incertezas em nossa capacidade de prever o que acontecerá com as esponjas, e quais serão as consequências para os ecossistemas em que vivem (WULFF 2012).

Esponjas são um importante componente dos ecossistemas marinhos tropicais (PAWLIK et al. 2007). Elas são consideradas importantes produtoras de compostos bioativos (metabólitos secundários), com o maior e mais diverso número de substâncias conhecidas entre os invertebrados, incluindo algumas de importância farmacêutica com atividades antitumorais, antivirais e anti-inflamatórias (MARINHO et al. 2012; MEHBUB et al. 2014). Esses metabólitos ajudam a protegê-las, por exemplo, contra infecções bacterianas, ataques de predadores, competidores por espaço, a bioincrustação, entre outros (PAUL e PUGLISI 2004; MARTY et al. 2016). Estas 'armas químicas' podem explicar seu domínio em algumas comunidades de substrato duro, tanto em termos de diversidade quanto de biomassa (IVANISEVIC et al. 2011).

Os metabólitos secundários desempenham um papel importante na adaptação ao meio ambiente (HAY 2009), e na superação das condições de estresse (RAMAKRISHNA e RAVISHANKAR 2011). A esponja *Aplysina aerophoba* (Nardo, 1833), por exemplo, possui fenóis bromados que são conhecidos por serem muito propensos a polimerização induzida pela luz. Assim, a mudança de exposição da luz poderia afetar a elaboração dessas substâncias.

Há poucos relatos na literatura sobre as tentativas do uso de produtos naturais de organismos marinhos como marcadores de distúrbios ambientais (FLEURY et al. 2008a). A energia alocada à produção dos metabólitos secundários pelos organismos, disponibilizada principalmente para as defesas químicas, deve ser desviada da quantidade de recursos disponíveis às demais funções fisiológicas (IVANISEVIC et al. 2011). Muitas vezes, a alocação de recursos das esponjas pode ser induzida pelas variações fisiológicas, chamado aqui de *trade-off*, entre desenvolvimento (crescimento e reprodução) e a produção de metabólitos secundários. Essas variações fisiológicas podem ser

influenciadas por fatores bióticos como a predação e/ou fatores abióticos como luz e disponibilidade de nutrientes (BECERRO et al. 1995; FERRETTI et al. 2009; LEONG e PAWLIK 2010).

As variações de alocação de recursos e produção de metabólitos secundários são explicadas por diferentes teorias, oriundas de estudos realizados inicialmente com plantas terrestres (RHOADES e CATES 1976). Dentre elas destacam-se: 1-Teoria de defesa ótima, que sugere, como a produção de metabólitos secundários para defesa tem alto custo, restringir o crescimento e/ou a reprodução (SCHUPP et al. 1999); 2-Hipótese de balanço carbono/nutriente, prediz que a alocação de recursos para a produção de defesas químicas será afetada à medida que as condições ambientais variam, como por exemplo, mudanças na disponibilidade de luz ou disponibilidade de nutrientes (PAUL e PUGLISI 2004); e 3-Teoria de estresse ambiental, que considera que um organismo no estado estressado será menos capaz de adquirir recursos, e o recurso adquirido será direcionado para a sua manutenção e não para defesa, quando comparado a indivíduos não estressados (CRONIN 2001).

Segundo recente revisão realizada por Bell e colaboradores (2015), estudos empíricos são necessários para entender os limites de tolerância para um número maior de espécies de esponjas e de pressões ambientais. Até o momento há poucas considerações na literatura sobre os efeitos sinérgicos das pressões ambientais sobre os poríferos. Assim, entender melhor as respostas metabólicas das esponjas marinhas em relação aos diferentes distúrbios antropogênicos podem trazer informações importantes para a conservação marinha, já que as esponjas podem ser consideradas um modelo de táxon para comparar processos de mudanças globais, como também podem influenciar outros organismos bentônicos e características do ecossistema (CARBALLO et al. 2008).

A presente tese tem como objetivo a busca por respostas metabólicas em esponjas marinhas, através do uso de seus produtos naturais, como nova e rápida ferramenta para a construção de indicadores subletais de estresses ambientais. Nesse intuito, a tese apresenta inicialmente uma revisão sobre as principais respostas das esponjas a alguns distúrbios ambientais (Capítulo 1). Em seguida, a partir de um estudo mais aplicado correlaciona um Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA) às respostas metabólicas de duas populações de

esponjas abundantes na Baía de Ilha Grande, *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 e *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864). Ainda, observa se esse índice pode ser considerado uma variável preditora a outros fatores comumente testados em avaliações ambientais (Capítulo 2). Além disso, através de experimentos manipulativos *in situ* foram avaliadas as respostas do crescimento (Capítulo 3), da produção de metabólitos secundários (Capítulo 4), e do *trade-off* entre o crescimento e o metabolismo secundário da esponja marinha *Desmapsamma anchorata* (Capítulo 5), quando submetidas aos distúrbios ambientais: enriquecimento de nutrientes; e exclusão de predadores (*top-down* e *bottom-up*).

1 ESPONJAS MARINHAS E SUAS RESPOSTAS A DISTÚRBIOS AMBIENTAIS: uma revisão

1.1 Introdução

Existe um consenso de que há um declínio dos ambientes recifais em todo o mundo (BELLWOOD et al. 2004). A degradação destes ecossistemas pode estar relacionada à sobre-exploração, poluição e doenças (HUGHES et al. 2003; PANDOLFI et al. 2003; BELLWOOD et al. 2004). Outros impactos antrópicos que também estão ameaçando habitats marinhos tropicais são o branqueamento de corais, podendo estar ligados ao aumento da temperatura e acidificação dos oceanos, a entrada de espécies invasoras, e outros fatores estressantes (CASTRO e PIRES 1999; PRZESLAWSKI et al. 2008; BELL et al. 2013; ROSSI et al. 2015). Em muitos locais, a resiliência não é tão forte. As tensões causadas pela atividade humana ultrapassam a capacidade de regeneração dos ambientes e podem causar alterações drásticas na composição de espécies, abundância e diversidade (BELLWOOD et al. 2004).

O aquecimento global é uma ameaça emergente para os ecossistemas em todo o mundo. O principal efeito da mudança climática seria um aumento da temperatura global projetada para 1,8 a 4°C em 2100 (IPCC 2007). Ambientes costeiros marinhos, especialmente nos trópicos, estão sofrendo com o aumento de eventos dramáticos de mortalidade em massa, e doenças associadas ao aquecimento dos oceanos (HARVELL et al. 2002). Nas últimas décadas houve um aumento global de relatos de doenças em organismos marinhos (LAFFERTY et al. 2004). Um dos principais fatores ambientais associados a essas doenças é a elevação da temperatura da água do mar (WEBSTER 2007).

Pesquisas atuais relacionadas às mudanças globais e impactos ambientais em ecossistemas tropicais se concentram em grande parte em corais e peixes, negligenciando outros organismos, como as esponjas marinhas, que tem papel crucial nos ecossistemas recifais. Estas podem atuar tanto de forma direta, aumentando a diversidade nos ecossistemas, através do número de espécies (DIAZ e RÜTZLER 2001; HOOPER e VAN SOEST 2004), quanto

indiretamente, através de suas espécies associadas (RIBEIRO et al. 2003). Além dos poríferos terem funções importantes no funcionamento dos ecossistemas, como ciclagem de nutrientes e regulação da qualidade da água (BELL 2008; DE GOEIJ et al. 2013), eles são importantes produtores de compostos bioativos, incluindo muitos de importância farmacêutica (MARINHO et al. 2012; MEHBUB et al. 2014).

Eutrofização e má qualidade da água são duas das principais preocupações para os ecossistemas dos recifes no mundo todo (SIMISTER et al. 2012). A descarga de efluentes de esgoto no oceano pode alterar a natureza química e física da água (BAKER et al. 1995) e levar a alterações na estrutura de uma vasta gama de assembleias de organismos (SMITH et al. 1999). Estresses como despejo de esgoto doméstico na água do mar podem aumentar os níveis de sólidos em suspensão e, portanto, a turbidez na coluna de água ou perto do seu ponto de descarga (SCANES e PHILIP 1995), com potencial para reduzir a quantidade de luz que atinge o substrato. Redução na disponibilidade de luz no meio pode limitar o crescimento e sobrevivência de diversos organismos (MALDONADO e YOUNG 1996), e provocar alterações da estrutura de assembleias de esponjas sobre recifes de coral (WILKINSON e TROTT 1985).

O sombreamento também pode afetar o crescimento e o estado reprodutivo das espécies de esponjas, como *Cymbastela concentrica* (Lendenfeld, 1887) (ROBERTS et al. 2006). As atividades agrícolas e urbanas são as principais fontes de fósforo e nitrogênio para ecossistemas aquáticos, e a deposição atmosférica contribui ainda mais como uma fonte de nitrogênio (COSTA Jr et al. 2002). Poluição orgânica em quantidades moderadas pode beneficiar as esponjas, por fornecer nutrientes para bactérias heterotróficas, que são fontes de alimento para esses organismos, principalmente o ultraplâncton (RÜTZLER 2004).

O declínio da qualidade da água pode estar também associado ao aumento de sedimentos em suspensão, e este tem sido intimamente ligado à redução da saúde dos ecossistemas marinhos bentônicos e seus organismos associados, incluindo esponjas (BANNISTER et al. 2012). Existem muitas causas para este aumento, mas a maioria se relaciona com mudanças no uso da terra, particularmente a intensificação agrícola e o desmatamento (SYVITSKI

et al. 2005). Em adição a essa entrada de sedimentos de origem terrestre, atividades humanas no oceano, tais como a dragagem, pesca de arrasto e mineração dos fundos marinhos, atuam mais diretamente e podem aumentar a quantidade de sedimento na coluna de água (FETTWEIS et al. 2010).

A pesca excessiva tem levado à diminuição de diversas espécies, sendo assim, organismos que anteriormente eram abundantes são agora considerados raros (COLL et al. 2012). As teias alimentares, por consequência também estão sendo alteradas (LOTZE et al. 2011). A predação é um fator considerado determinante na abundância e estrutura de populações de presas, assim como a estrutura e funcionamento da comunidade (MENGE 1995). Ela também é considerada um dos mais importantes fatores bióticos que influenciam a distribuição das esponjas e seus padrões de abundância (LOH e PAWLIK 2012a).

Embora já tenha sido percebida a importância das esponjas no funcionamento dos ecossistemas marinhos (por exemplo, DIAZ e RÜTZLER 2001; WULFF 2001; BELL 2008; DE GOEIJ et al. 2013), estas informações e reconhecimento nem sempre atingem em larga escala programas de monitoramento, conservação e manejo. A exclusão das esponjas dos programas de monitoramento pode ser de grande preocupação. Diversos papéis funcionais que as esponjas exercem podem influenciar o funcionamento de todo ecossistema, em função das mudanças ambientais globais (BELL 2008). Trabalhos recentes têm mostrado o processo de mudança de fase em recifes de corais do Caribe, para dominância de esponjas, em locais de sobrepesca (LOH et al. 2015; PAWLIK 2011). Segundo uma revisão recente, apenas 7% dos estudos realizados com esponjas são sobre conservação, impactos ambientais e monitoramento de esponjas (BELL et al. 2015).

A presente revisão descreve respostas dadas por espécies de esponjas diante de diferentes distúrbios ambientais. A importância das esponjas marinhas como bioindicadoras no Brasil será abordada no final da revisão.

1.2 Material e Métodos

Foi compilada uma base de dados de artigos publicados entre 1971 a 2015, incluindo esponjas marinhas e de água doce. Os sites de busca utilizados foram: Periódicos CAPES, Pubmed, Scopus e *Google Scholar*. Foram utilizadas as palavras-chave: “*sponge OR porifera AND environmental stress OR impact*”, além das palavras *sponge OR porifera AND stress OR impact AND [temperature OR luminosity OR shading OR (sedimentation OR silting) OR (nutrientes OR eutrophication) OR predation]* - os estresses citados no presente estudo. Com relação às esponjas como bioindicadores de distúrbio ambiental no Brasil, foram utilizadas as seguintes palavras-chave: *sponge OR porifera AND bioindicator OR biomarker OR biomonitor Brazil*.

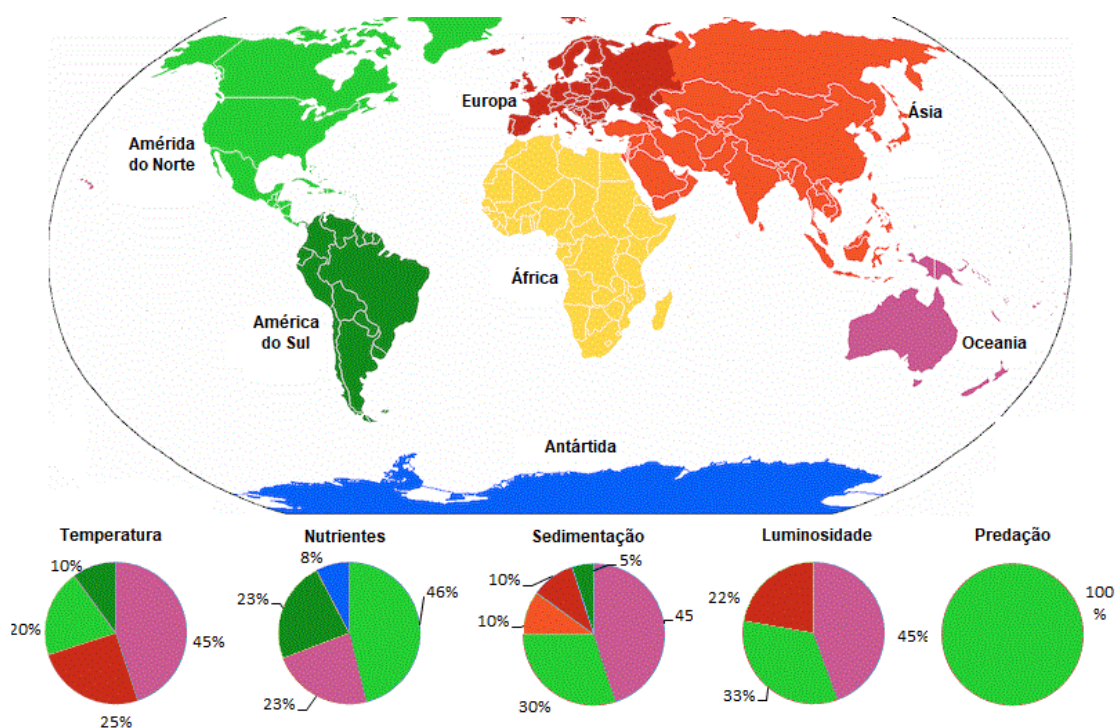
As buscas citadas acima foram realizadas entre junho e setembro de 2015. Os artigos foram organizados de acordo com as respostas das esponjas aos distúrbios ambientais como temperatura, luminosidade, sedimentação, nutrientes, predação e interação entre esses fatores, podendo ser as respostas positiva, negativa ou neutra. Os estudos também foram separados por locais em que foram realizados, a fim de quantificar o número de estudos em cada região. Os dados foram apresentados através de estatística descritiva.

1.3 Resultados

No total foram encontradas **86** referências. O continente com maior número de trabalhos publicados envolvendo esponjas e distúrbios ambientais foi a América do Norte seguida pela Oceania (Figura 1). Na América do Norte, o Caribe foi o local com maior número de trabalhos, incluindo todos envolvendo respostas a predação. Na Oceania a Grande Barreira de Corais teve maior número de trabalhos envolvendo distúrbios ambientais e esponjas. A Antártida teve um único trabalho envolvendo a resposta de esponjas marinhas a disponibilidade de nutrientes (FILLINGER et al. 2013). A América do Sul foi o segundo continente com menor número de trabalhos publicados, entre eles cinco

trabalhos publicados no Brasil (MURICY 1989; VILANOVA et al. 2004; COSTA et al. 2008; TURQUE et al. 2010; KELMO et al. 2013) e um na Colômbia (AERTS et al. 1997) Nenhum trabalho envolvendo respostas de esponjas a distúrbios ambientais foi publicado no continente africano. (Figura 1).

Figura 1 - Porcentagem de artigos sobre respostas de esponjas a distúrbios ambientais em diferentes continentes. Os continentes, separados por cor, correspondem a cada parcela de cada um dos cinco gráficos: Temperatura, Nutrientes, Sedimentação, Luminosidade e Predação. Artigos envolvendo múltiplos distúrbios foram contabilizados em ambos (n=86).

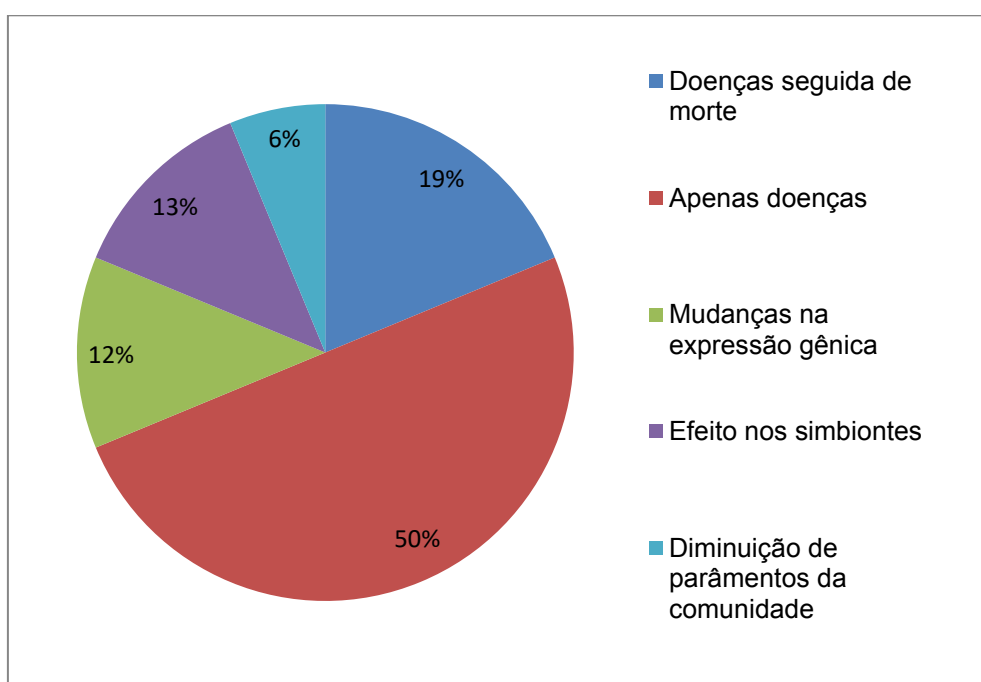


Fonte: A autora, 2018.

1.3.1 Temperatura

Para demonstrar o efeito dos impactos do aumento da temperatura sobre os poríferos foram encontrados 21 artigos, sendo que oito deles demonstraram que o aumento da temperatura não surtiu efeito sobre as esponjas. Dos artigos que apresentaram efeito negativo do aumento da temperatura, 50% relataram sobre o aparecimento de doenças e morte nas esponja, enquanto que os outros efeitos foram bem distribuídos entre os 50% restantes (Figura 2).

Figura 2- Diferentes efeitos negativos causados pelo aumento da temperatura da água do mar em esponjas (n=21).



Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

Impactos negativos foram observados em temperaturas acima de 27°C quando ocorreu um episódio de mortalidade em massa envolvendo três esponjas marinhas: *Ircinia variabilis* (Schmidt, 1862), *Sarcotragus spinosulus* Schmidt, 1862 e *Spongia officinalis* Linnaeus, 1759 em Scoglio del Trave, no Mar

Adriático, no final do verão de 2009 (DI CAMILLO et al. 2013). A riqueza de espécies, diversidade, uniformidade e densidade de esponjas também foram reduzidas no local de descarga de água da Usina Nuclear de Angra dos Reis, Brasil, principalmente no transecto de superfície, as análises indicam um impacto térmico, associado à presença de cloro e ao alto fluxo de água (VILANOVA et al 2004).

O aparecimento da doença foi observado onde as espécies mostraram áreas de necrose evidentes em seus tecidos, e porções com esqueleto nu, os quais foram cobertos por um filme branco de cianobactérias em muitos espécimes de *S. spinosulus*. Cerca de 22% das espécies de Demospongiae do local sofreram desta doença (DI CAMILLO et al. 2013). Em outro estudo, também foi observado que a presença de manchas brancas na superfície da esponja *Petrosia ficiformis* (Poiret, 1789) coincide com os eventos de estresse ambiental, como o aumento da temperatura para mais de 25°C, podendo ser esse o primeiro aviso de que os poríferos estão sofrendo de estresse seguido por uma alteração acentuada na funcionalidade do epitélio do organismo (CERRANO et al. 2001).

As condições de populações de esponjas foram descritas, antes e depois de surto de mortalidade, ocorridos no final do verão de 2008 e 2009 em duas áreas marinhas protegidas no mar Mediterrâneo ocidental, o Parque Nacional Cabrera e Reserva Naturelle de Scandola, devido ao aumento de temperatura para até 26 °C, permitindo uma avaliação mais precisa do impacto da mortalidade desses organismos (CEBRIAN et al. 2011). Quase todos os indivíduos de *Ircinia fasciculata* (Pallas, 1766) apresentaram mortalidade parcial ou total. Por outro lado, embora a esponja *Sarcotragus spinosulum* Schmidt, 1862 compartilhasse o mesmo habitat que *I. fasciculata*, só ocasionalmente foram observadas pequenas áreas de necrose ou cobertura por filamento bacteriano branco (CEBRIAN et al. 2011).

A esponja recifal tropical *Rhopaloeides odorabile* Thompson, Murphy, Bergquiste Evans, 1987 foi cuidadosamente estudada em relação aos impactos térmicos na Ilha de Pelorus, norte de Queensland, Austrália. Quando submetidas às temperaturas de 33°C os poríferos e suas comunidades microbianas associadas exibiram claros sinais de estresse, incluindo a necrose do tecido superficial da esponja, acompanhado de grandes mudanças na estrutura da comunidade microbiana (WEBSTER et al. 2008). Em outros estudos também foi

observado que a esponja *R. odorabile* e seus simbiossitos submetidos a temperaturas de 32°C demonstraram respostas de estresse na Grande Barreira de Corais (PANTILE e WEBSTER 2011; FAN et al. 2013; WEBSTER et al. 2013).

A temperatura causou mudanças na expressão gênica das esponjas, relacionada ao estresse. Também na Grande Barreira de Corais, clones de *R. odorabile* expostos ao tratamento de 32°C exibiram necrose do tecido substancial (descoloração e aparência de fibras ósseas expostas), após 3-4 dias. Os genes envolvidos na transdução de sinal (calmodulina) e desintoxicação (glutathione-S transferase) também mostraram menor expressão, o que indica alterações induzidas por estresse na regulação do gene e no metabolismo da esponja (FAN et al. 2013).

A expressão de *HSP70* (*heat-shockproteins* ou proteínas de choque térmico), genes ligados ao aumento da apoptose em esponjas em 32°C, comparada com as esponjas saudáveis, demonstrou uma resposta molecular direta ao estresse térmico (FAN et al. 2013). As observações acima mostraram que a comunidade microbiana, que é tipicamente associada a *R. odorabile* foram perdidas durante o evento de estresse de temperatura e, conseqüentemente foi substituído por um novo conjunto de microrganismos (FAN et al. 2013). As *HSPs* representam um dos mecanismos de proteção celular. Elas são consideradas proteínas indicadoras de distúrbio ambiental, devido a transcrição e tradução serem induzidas por condições estressantes, como exposição às temperaturas extremas, à radiação ultravioleta, e a presença de metais na água do mar (LÓPEZ-LEGENTIL et al. 2008). Sabe-se que dentre os genes da família de resposta ao choque térmico, o *HSP70* é um dos genes altamente conservados, e o primeiro a ser induzido em resposta a diversos fatores estressantes (MUKHOPADHYAY et al. 2003). Experimentos de manipulação expuseram a esponja *Xestospongia muta* (Schmidt, 1870) ao aumento de temperaturas da água do mar em Conch Reef e Conch Wall na Flórida. Após um período de 15 horas foi observado um efeito evidente na expressão do gene *HSP70* nos tratamentos com 40°C e 30°C. Houve diminuição da expressão do gene *HSP70*, o que pode ser atribuída a uma falha metabólica e morte da esponja (LÓPEZ-LEGENTIL et al. 2008).

A temperatura da água do mar também pode ter efeito negativo na produção de metabólitos secundários de algumas espécies de esponja. Ao

longo da costa sudoeste australiana, o composto salicilialamida A encontrado nas esponjas do gênero *Haliclona* teve sua concentração reduzida. A concentração desta substância decresceu com o aumento de 0,5°C na temperatura da água para cada grau de latitude, resultando em uma diferença de temperatura de cerca de 3°C entre os locais de estudo (ABDO et al. 2007).

Respostas neutras também podem ser observadas em função de mudanças na temperatura. Um estudo de longo prazo realizado em recifes no estado da Bahia, nordeste do Brasil, mostrou que as assembleias de esponjas não foram afetadas pelo aumento da temperatura da água do mar, causada pelo fenômeno *El Niño* no período de 1997-1998 (KELMO et al. 2013). Na Jamaica observou-se que o crescimento e a sobrevivência das esponjas *Iotrochota birotulata* (Higgin, 1877) não foram alterados em condições de temperaturas semelhantes aquelas esperadas para o ano de 2100, ou seja, um acréscimo de 2,2°C na água do mar. Este fato pode estar relacionado com a presença dessas espécies em habitats e/ou profundidades que episodicamente já experimentaram altas temperaturas. Os autores também sugeriram que as temperaturas mais elevadas provavelmente não irão afetar significativamente a biossíntese do metabólito *N-tele-metilhistamin*, e o seu papel ecológico em *I. birotulata* (DUCKWORTH et al. 2012).

Em estudo manipulativo realizado com a esponja *Axinella corrugata* (George e Wilson, 1919) em condições de temperaturas elevadas, também foi observado que não houve aumento significativo na produção do metabólito secundário contendo um heptapeptídeo cíclico, estevensina, conhecido por possuir atividade antitumoral e antimicrobiana (YALÇIN 2007).

O mesmo estudo citado acima observou que a expressão de genes em resposta à temperatura elevada resultou na expressão de dois genes diferentes quando comparados com o controle: um inibidor da ribonuclease, pertencente à família de proteínas NLRP4 (em inglês *NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 4*), que estava envolvido no processo de inflamação. Enquanto esse inibidor teve sua concentração substancialmente reduzida, *HSP70* teve sua concentração significativamente aumentada quando exposto a temperaturas mais altas (GRIMA 2013). Observações no centro da Grande Barreira de Corais da Austrália evidenciaram uma maior abundância de esponjas escavadoras após um grande evento de branqueamento de corais, sugerindo que as esponjas

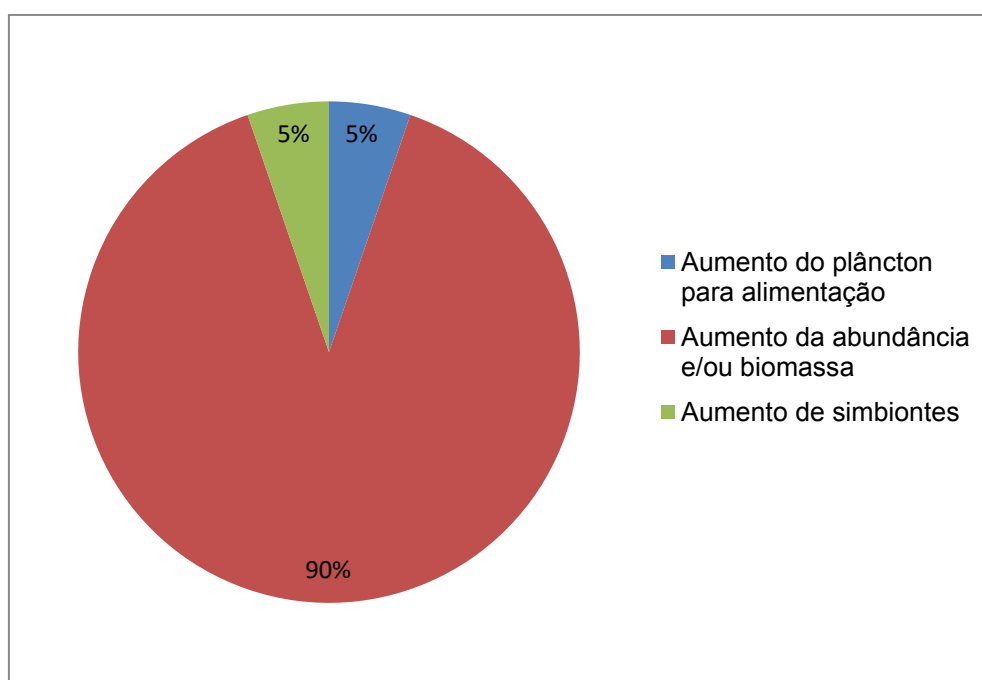
poderão beneficiar-se do aquecimento dos oceanos, uma vez que a mortalidade de corais propiciará possivelmente maior disponibilidade de espaço (SCHÖNBERG e ORTIZ 2008). Ao contrário de muitos organismos calcificados que dependem de um elevado estado de saturação de carbonato de cálcio (CaCO_3) na água do mar, para auxiliar na construção de seus esqueletos calcários, esponjas perfurantes como *Cliona orientalis* Thiele, 1900 que produzem esqueleto silicoso, não sofrerão impacto por elevações de temperatura e diminuição do pH para a formação de seu esqueleto (FANG et al. 2013).

Alguns estudos mostram que larvas de esponjas são mais resistentes que indivíduos adultos. Whalan e colaboradores (2008) observaram que larvas de *R. odorabile* na Grande Barreira de Corais após coletadas e expostas a diferentes temperaturas sobreviveram e ainda podiam se metamorfosear a temperaturas de até 38°C (WHALAN et al. 2008). Os autores sugeriram que esta espécie apresenta características fisiológicas que contribuem para a sua sobrevivência em condições de flutuação de temperatura da água do mar (WHALAN et al. 2008). Webster e colaboradores (2013) revelaram que a expressão do gene nas larvas de *R. odorabile* também não foi significativamente afetado pelas temperaturas elevadas, apesar de seus adultos apresentarem ausência de expressão gênica a 32°C. Este resultado indica que, pelo menos nesta espécie, a adaptação ao ambiente pode ocorrer através da tolerância na fase larval, atuando como um vetor de resistência térmica.

1.3.2 Nutrientes

Os estudos sobre os efeitos do aumento de nutrientes no ambiente mostraram resultados opostos ao aumento de temperatura. Dos 23 artigos encontrados, 19 relataram efeitos benéficos às esponjas (Figura 3).

Figura 3- Diferentes efeitos causados pelo aumento de nutrientes na água do mar em esponjas (n=23).



Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

Em alguns casos, a abundância ou biomassa de esponjas bentônicas são mais elevadas em regiões mais próximas de uma fonte de enriquecimento de nutrientes (MEESTERS et al. 1991). Contudo, em um mesmo local, espécies diferentes de esponja podem não responder de maneira semelhante ao acréscimo de nutrientes. O impacto da poluição da Baía de Guanabara, sudeste do Brasil influenciou na distribuição das comunidades de esponjas, com menor riqueza, diversidade e densidade no interior da Baía (TURQUE et al. 2010). Os autores observaram que a esponja *Hymeniacidon heliophila* (Wilson, 1911) foi mais abundante dentro do que fora da Baía, enquanto que *Paraleucilla magna*

Klautau, Monteiro e Borojevic, 2004 foi menos abundante, e *Petromica citrina* Muricy, Hajdu, Minervino, Madeira e Peixinho, 2001 estava ausente no interior da Baía. Estes resultados indicaram que *H. heliophila* e *P. magna* são espécies tolerantes, e melhores adaptadas aos ambientes eutrofizados do interior da Baía de Guanabara, enquanto *P. citrina* parece ser sensível a essas condições (TURQUE et al. 2010). A maioria dos estudos no entanto mostram respostas positivas das esponjas ao enriquecimento de nutrientes. As espécies de esponjas do gênero *Cliona* foram encontradas em maior abundância nas áreas com maior eutrofização (ROSE e RISK 1985; HOLMES 2000). Os recifes mais impactados com o aumento de fósforo e nitrogênio, de uma maneira geral, apresentam maior abundância de organismos perfurantes. Desta forma, eles ficam sujeito a um maior nível de erosão, e conseqüentemente maior produção de sedimentos e assoreamento, o que pode levar ao comprometimento das assembleias de corais. (ROGERS 1990; WITTENBERG e HUNTE 1992; AERTS e VAN SOEST 1997; NUGUES e ROBERTS 2003).

Recifes de corais na Flórida, apresentaram altas concentrações de nutrientes devido à contaminação por esgotos urbanos. Fato que ocasionou uma maior abundância das espécies perfurantes *Cliona delitrix* Pang, 1973 e *C. lampade* Laubenfels, 1950 (WARD-PAIGE et al. 2005). As maiores abundâncias de esponjas escavadoras registradas em Caleta de Chon e Zacatoso, Guerrero, México, também foram associadas a elevados níveis do isótopo $\delta^{15}\text{N}$ e sedimentação. Altos níveis de $\delta^{15}\text{N}$ são indicativos de contaminação de águas residuais urbanas (PETERSON e FRY 1987; RISK et al. 2009). Essa relação positiva da biomassa de esponjas com altas cargas de poluição orgânica e sedimento já foi reconhecida por diversos autores (ROGERS 1990; WILKINSON e CHESHIRE 1990; COSTA et al. 2008). No Indo-Pacífico, as cianobactérias simbióticas da esponja *Terpios hoshinota* Rützler e Muzik, 1993 aumentaram em abundância nos recifes, devido ao elevada quantidade de nutrientes (SCHILS 2012). A abundância das esponjas hexactinelidas antárticas também aumentaram em algumas áreas, provavelmente por causa de um influxo de nutrientes, após o colapso de plataformas de gelo, que resultou no aumento da produção primária (FILLINGER et al. 2013).

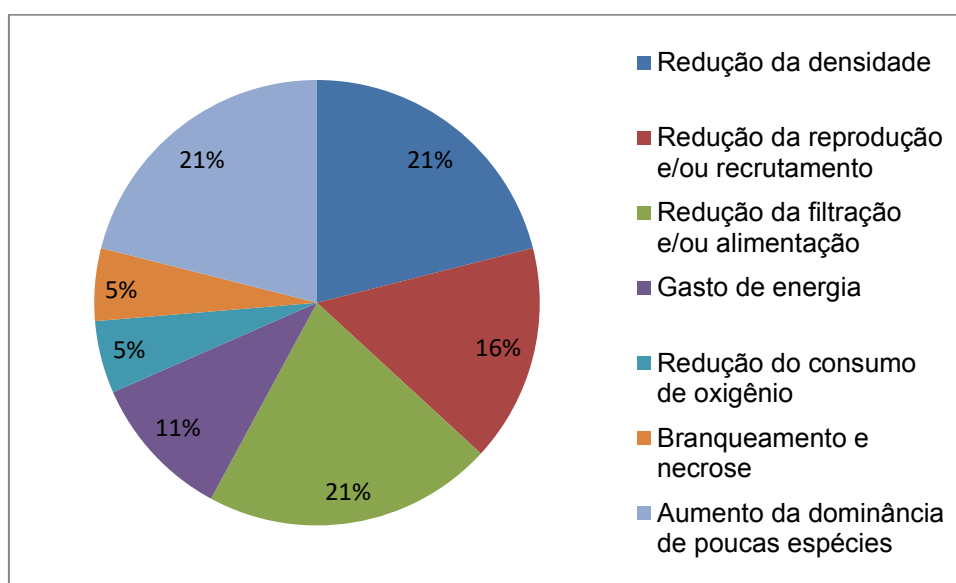
O aumento de nutrientes também pode ter efeito neutro sobre as esponjas. Em Spring Garden na costa oeste de Barbados, esponjas incrustantes

não foram mais abundantes apesar dos altos níveis de nutrientes da região (HOLMES 2000). Robert e colaboradores (2006) concluíram em experimento realizado no recife South Wales, Australia, que os nutrientes "chave", nitrogênio e fósforo, não influenciaram no aumento do crescimento das esponjas e de suas algas simbióticas (ROBERTS et al. 2006).

1.3.3 Sedimentação

O fator sedimentação foi o que apresentou o maior número de respostas. Foram encontrados 17 artigos, e em sua maioria (14) foram observados dados que mostravam danos às esponjas (Figura 4).

Figura 4 - Diferentes efeitos causados pelo aumento da sedimentação na água do mar em esponjas (n=17).



Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

Níveis elevados de sedimentação foram propostos para explicar comunidades empobrecidas de esponja, pois a sedimentação em excesso pode causar uma redução da filtração, ou parar completamente este processo (REISWIG 1971). O entupimento causado pela sedimentação em excesso pode

também reduzir o fluxo de água e, portanto, de nutrientes (ROBERTS et al. 2006). Esponjas vivendo sob condições de alta sedimentação podem se tornar energeticamente estressadas, com os esforços para expulsar o material indesejado, contribuindo para um esgotamento das suas reservas (ROBERTS et al. 2006; BANNISTER et al. 2012).

Altas taxas de sedimentação afetam as taxas de respiração das esponjas. Duas espécies de poríferos *Aaptos rosacea* Kelly-Borges e Bergquist, 1994 e *Aaptos globosa* Kelly-Borges e Bergquist, 1994 da Nova Zelândia tiveram o consumo de oxigênio reduzido, depois de manipuladas para ficarem expostas a diferentes taxas de sedimentação (LOHRER et al. 2006). As taxas de depuração foram afetadas sugerindo que a capacidade de alimentação também pode ser prejudicada (LOHRER et al. 2006). Pineda e colaboradores (2015) testaram 10 espécies de esponjas englobando quatro diferentes morfologias (massiça, ereta, cálice e incrustante) expostas a diferentes concentrações de sedimento. Em geral, formas maciças, incrustantes e de corpo largo acumulam mais sedimentos que esponjas com morfologia ereta. Todas as morfologias de esponjas citadas encolheram quando expostas à alta sedimentação (PINEDA et al. 2015). Em outubro de 2005 foi documentada em Ngardmau, Palau, Micronésia uma pluma de sedimentos, e os danos causados por ela em diversos recifes de corais, ao longo dessa bacia. Essa intensa sedimentação ocorreu por causa da remoção da vegetação devido à construção de estradas, expondo o sedimento fino na água do mar, oriundo da erosão do solo devido à chuva de monções. Diversos organismos foram documentados sofrendo danos devido a esse grande impacto, incluindo esponjas, que mostraram sinais de branqueamento e necrose (FABRICIUS et al. 2007).

Esponjas perfurantes do Oceano Pacífico Central, no México, foram relatadas sofrendo estresses com impactos de sedimentação. A espécie *Cliona vermifera* Hancock, 1867 foi duas vezes mais abundante na área natural, Ilha Isabel, que em Punta de Mita, considerada uma área mais perturbada, com alta deposição de sedimentos e alta turbidez da água. Em contraste, a espécie *Aka cryptica* Carballo, Hepburn, Nava, Cruz-Barraza e Bautista-Guerrero, 2007 foi mais abundante em Punta de Mita (NAVA e CARBALLO 2013), provavelmente devido a forma do seu corpo, pois a espécie ficava parcialmente enterrada, porém, fístulas atingiram a coluna de água (SCHÖNBERG e ORTIZ 2008).

Em um estudo manipulativo, o aumento da sedimentação levou à redução do peso e menor atividade reprodutiva da esponja *C.concentrica*, além de ter alterado a relação simbiótica entre a esponja e suas microalgas (ROBERTS et al. 2006). A persistente exposição de *R. odorabile* ao aumento do sedimento fino em suspensão e sedimentos terrestres, no recife interno da Ilha Pelorus, na Grande Barreira de Corais da Austrália, pode ser uma explicação chave para a redução das taxas reprodutivas, e da posterior redução de abundância da espécie neste local (BANNISTER et al. 2012). O aumento da sedimentação também pode impedir o alcance de propágulos assexuados dificultando o recrutamento e consolidação (MALDONADO et al. 2008).

As esponjas *Rhabdocalyptus dawsoni* (Lambe, 1893) e *Aphrocallistes vastus* Schulze, 1886 também sofreram com o impacto da sedimentação. Tompkins-Macdonald e Leys (2008) observaram impedimento do bombeamento da água do mar devido a sedimentação. Porém, embora essas esponjas pudessem bloquear sua alimentação em resposta a pequenas irritações, grandes quantidades de sedimentos entupiram seus canais e impediram sua alimentação (TOMPKINS-MACDONALD e LEYS 2008).

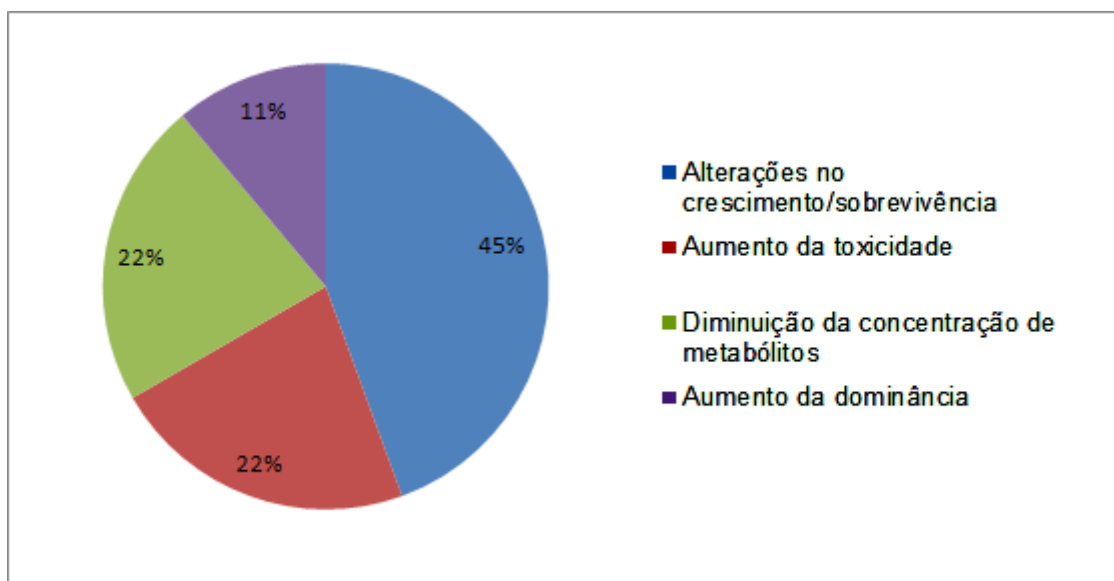
Em alguns casos no entanto, os valores registrados de assoreamento podem não ter influência nas respostas das esponjas. Devido às construções portuárias, estaleiros e cais, na Baía de Algeciras, na Espanha, o assoreamento ocorrido não restringiu a distribuição da maioria das espécies encontradas nas estações amostradas (CARBALLO et al. 1996). Algumas destas espécies se adaptaram ao ambiente com altas taxas de assoreamento, desenvolvendo estruturas que lhes permitiram sobreviver em condições com estes níveis elevados de sedimentação, como *Dysidea avara* (Schmidt, 1862), *Crella elegans* (Schmidt, 1862), e *Halichondria bowerbanki* Burton, 1930. No mesmo trabalho, o assoreamento resultou em respostas positivas de algumas espécies de esponjas que pareceram preferir ambientes assoreados, tornando-se dominantes, como no caso de *Cliona celata* Grant, 1826 ou *C. viridis* (Schmidt, 1862) (CARBALLO et al. 1996). Algumas espécies como *Polymastia* sp., *Mycale arenosa* Hajdu e Boury-Esnault, 1991, *Dysidea fragilis* (Montagu, 1814) e *Petromica cyocalyptoides* (van Soest e Zea, 1986), que resistem a altas taxas de sedimentação e abrasão em profundidades entre 4 e 8 metros, também foram encontradas em Arraial do Cabo, Sudeste do Brasil (MURICY et al. 1991).

No Parque Nacional Marinho Wakatobi, SE Sulawesi, na Indonésia, observou-se mudança de fase entre os organismos bentônicos. Atualmente, as esponjas dominam vários ambientes que já foram dominados por corais. A cobertura de coral diminuiu em torno de 20% ao longo de um período de 6-7 anos (POWELL et al. 2010), enquanto que a densidade de esponjas parece ter aumentado em relação ao mesmo período (BELL e SMITH 2004; POWELL et al. 2010). Curiosamente, estes locais dominados por esponjas são caracterizados por possuírem uma única espécie dominante, a esponja *Lamellodysidea herbacea* (Keller, 1889), e por apresentarem altos níveis de sedimentação e água turva em determinadas épocas do ano. Em outro estudo também foi relatado que a diversidade de esponjas foi maior em áreas que sofreram maiores taxas de sedimentação, em comparação com as áreas com menores taxas (BELL e BARNES 2000).

1.3.4 Luminosidade

Nos nove trabalhos encontrados sobre o impacto da redução da luminosidade também foram observadas respostas bem diversas e até opostas, sugerindo que esse fator gera respostas espécie-específicas nas esponjas (Figura 5). Desses a maioria mostrou alterações no crescimento ou sobrevivência das esponjas.

Figura 5- Diferentes efeitos causados pela redução de luminosidade em comunidades de esponjas (n=9).



Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

Como respostas negativas, Roberts e colaboradores (2006) observaram que o sombreamento pode afetar o crescimento e o estado reprodutivo da esponja *C. concentrica*. Diversas espécies de esponjas foram registradas sendo mais tóxicas em locais sombreados do que em habitats bem iluminados, acumulando mais compostos bioativos (BECERRO et al. 1995; FERRETTI et al. 2009), o que pode corresponder a um gasto maior de energia. Becerro e Paul (2004) demonstraram que em bioensaios de avaliação dos efeitos de diferentes regimes de iluminação sobre espécimes das esponjas transplantadas *Dysidea granulosa* Bergquist, 1965, houve diminuição da concentração de metabólitos secundários em condições com pouca luminosidade. Já com relação a produção de carotenóides, sua concentração na esponja *Clathria prolifera* (Ellis e Solander, 1786) foi significativamente maior quando ela habitava locais bem iluminados, enquanto quando transplantadas para locais com baixa luminosidade ocorria a redução da concentração desses compostos. Provavelmente essa classe de substância deve estar relacionada com o papel ecológico de fotoproteção às esponjas (DATTELBAUM et al. 2010). O aumento da turbidez também pode reduzir a penetração da luz, e impactar as espécies fototróficas (LEMLOH et al. 2009).

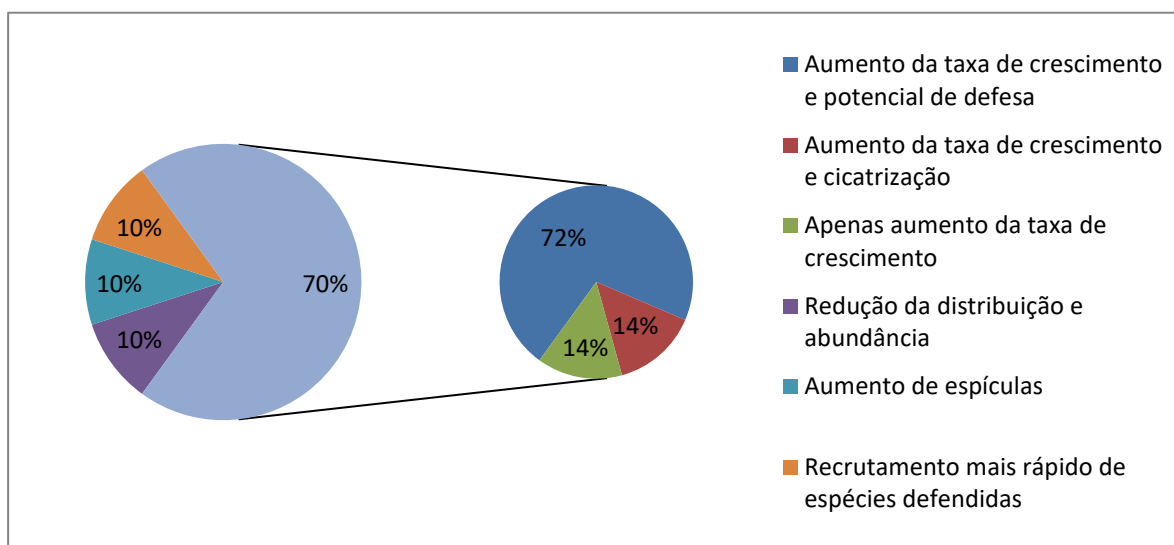
Muitas vezes não são encontrados, em condições sombreadas, os simbioses em esponjas hospedeiras potenciais. O estudo realizado por Thacker (2005) com as esponjas e seus simbioses mostrou que o efeito do sombreamento diminuiu a massa e a porcentagem de cobertura da esponja *Lamellodysidea chlorea* (de Laubenfels, 1954), indicando que a simbiose entre *Lamellodysidea-Oscillatoria* é provavelmente uma interação mutualista. Já com relação à cianobactéria *Oscillatoria spongelliae* Schulze ex Gomont, 1892 sua abundância não se alterou significativamente, indicando que estes simbioses podem ser incapazes de dispersar a partir do seu hospedeiro. O sombreamento não afetou diretamente a esponja *Xestospongia xigua* (Kirkpatrick, 1900), porém, quando estas esponjas ficaram em ambientes sombreados houve perda significativa de cianobactérias, devido à diminuição da taxa fotossintética (THACKER 2005).

Por outro lado, no Atol Palmyra, Oceano Pacífico Central, as esponjas dominavam os ambientes de lagunas (KNAPP et al. 2013). Devido a impactos antrópicos, esses locais vêm sofrendo diversos estresses por aumento da turbidez da água (KNAPP et al. 2013). Os resultados desse estudo sugeriram que as espécies de esponjas dentro das lagunas estão fortemente associadas com as características ambientais e biológicas, e seria improvável sua expansão para os recifes exteriores, a menos que haja mudanças profundas na qualidade ambiental dos recifes (KNAPP et al. 2013).

1.3.5 Predação

Com relação aos estudos realizados sobre o impacto da exclusão de predadores em comunidades de esponjas foram encontrados apenas 10 artigos, que em geral relataram sobre o aumento de esponjas palatáveis no meio, por não possuírem metabólitos secundários para defesa, e sobre o aumento da sua agressividade na competição com outros organismos. Apenas um trabalho sugere que a exclusão de predadores favorece o recrutamento e a cicatrização de esponjas palatáveis (Figura 6).

Figura 6 - Diferentes efeitos causados pela perda de predadores em comunidades de esponjas (n=10).



Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

As estratégias morfológicas de defesa contra a predação são limitadas em esponjas (HILL e HILL 2002). Em um estudo realizado no recife Alligator, em Florida Keys, os autores observaram que a esponja *Anthosigmella varians* (Duchassaing e Michelotti, 1864) poderia aumentar o conteúdo de espículas em resposta a pressão de predação. Esse estímulo mecânico poderia servir como um sinal para aumentar a concentração de espículas, sendo uma condição de defesa induzida. Já a variação rígida desta mesma espécie reduziu o conteúdo de espículas quando protegido da predação (HILL e HILL 2002).

Na ausência de peixes espongívoros, a esponja *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 cresceu sobre a maioria dos corais com o qual interagiu no costão, uma vez que nenhum dos corais pôde lidar com as rápidas taxas de crescimento e agressividade desta esponja (HILL 1998). Isto é considerado um dado particularmente importante, já que aproximadamente 30% de todas as interações coral-esponja envolvem *C. nucula* em Florida Keys (HILL 1998). Sendo assim, os espongívoros podem influenciar as interações competitivas entre esponjas e corais. Em um segundo estudo, também realizado no mar do Caribe, em 69 locais, foi observado que a remoção de peixes anjos e peixes papagaios resultaram em um aumento excessivo no crescimento de esponjas

sobre corais, em uma escala de mais de três vezes. O contato coral-esponja aumentou de 11% para 26%, e essas esponjas eram em sua maioria espécies palatáveis que possuíam taxas mais rápidas de crescimento ou reprodução (LOH et al. 2015).

Em experimento de predação realizado no recife Caribenho, North Dry Rocks foram utilizadas espécies de esponjas indefesas *Callyspongia armigera* (Duchassaing e Michelotti, 1864), *Iotrochota birotulata* e *Niphates erecta* Duchassaing e Michelotti, 1864, e espécies produtoras de metabólitos secundários com atividade defensiva *Amphimedon compressa* Duchassaing e Michelotti, 1864, *Aplysina cauliformis* (Carter, 1882), *Aplysina fulva* (Pallas, 1766) e *Ptilocaulis walpersi* (Duchassaing e Michelotti, 1864) (ENGEL e PAWLIK 2005). Foi observado que quando os predadores foram excluídos dos experimentos com gaiolas, as taxas de crescimento das esponjas indefesas foram maiores, enquanto que as esponjas defendidas cresceram a mesma taxa dentro e fora da gaiola (LEONG e PAWLIK 2010).

Se predadores de esponjas forem removidos do sistema, resultaria em maiores taxas de crescimento ou reprodução de espécies de esponjas palatáveis, resultando na maior abundância proporcionalmente da comunidade de esponjas (LOH e PAWLIK 2014). Por exemplo, a esponja *Mycale laevis* (Carter, 1882) presente no mar do Caribe é uma esponja palatável e se apresenta na forma incrustante, quando encontrada em ambientes semicrípticos, em recifes com peixes espongiívoros. Já quando essa esponja é encontrada em ambientes com sobre-exploração de pesca, sua forma corporal é mais maciça e aparentemente sufoca colônias de corais com seu sobrecrecimento (LOH e PAWLIK 2012b).

Outros experimentos manipulativos demonstraram que as espécies de esponjas palatáveis aos predadores apresentaram taxas de recrutamento e de cicatrização de feridas mais rápidas do que as espécies defendidas. O crescimento dos tecidos dessas espécies agiu em oposição à pressão dos predadores (LOH e PAWLIK 2014). Pawlik (2011) propôs um modelo conceitual que previu que se ocorresse a remoção de peixes espongiívoros do sistema, as espécies preferidas pelos peixes e palatáveis à predação teriam uma vantagem competitiva sobre as esponjas defendidas, e possivelmente, sobre os corais e as algas. Essa situação já está sendo observada em diversos locais no Caribe, onde

a pesca excessiva através do uso indiscriminado de armadilhas para peixes, reduz consideravelmente a abundância de todas as espécies de peixes (LOH e PAWLIK 2009; PAWLIK 2011).

1.3.6 Interação entre fatores - Poluição

Diferentes fatores podem atuar ao mesmo tempo influenciando na resposta das esponjas. Efeitos interativos de estresses ambientais como inclusão de altos níveis de nutrientes (até nove vezes mais que nas condições normais) e aumento de temperatura (31°C) em condições manipuladas sobre os clones de *R. Odorabile* não apresentaram efeito sobre as esponjas, sendo elas visualmente semelhantes aos mantidos em condições controle (SIMISTER et al. 2012). As comunidades microbianas de *R. odorabile* também não foram significativamente afetadas por esses distúrbios ambientais, indicando que esta espécie de esponja é capaz de suportar exposição de curto prazo em concentrações subletais elevadas de nutrientes e temperatura (SIMISTER et al. 2012). Monitoramentos recentes das comunidades de esponjas no local de descarga de água, da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto, única central nuclear brasileira, localizada em Angra dos Reis, Rio de Janeiro (Brasil), mostraram que o impacto térmico, associado à presença de cloro e fluxo de água elevado diminuiu a riqueza de espécies, a diversidade, a equitabilidade e adensidade de esponjas (VILANOVA et al. 2004). Como já citado anteriormente no tópico 1.3.2, Holmes (2000) observou que apesar dos altos níveis de nutrientes da região de Spring Garden na costa oeste de Barbados, esponjas incrustantes não foram mais abundantes nesses locais. Spring Garden também possui altos níveis de sedimentação (ALLARD 1994), e isso pode impedir o crescimento de esponjas incrustantes (SCHROETER et al. 1993).

1.3.7 Esponjas como bioindicadores no Brasil

Indicadores ecológicos são utilizados para avaliar a saúde do meio ambiente, fornecendo um aviso antecipado de alterações na região, ou para diagnosticar a causa de um problema ambiental (LINTON e WARNER 2003; GONZÁLEZ-DÍAZ et al. 2010). Um indicador consiste em um sinal que transmite uma mensagem complexa de uma forma simplificada e útil. Fornecendo informações sobre uma tendência ou evento que não pode ser observado diretamente (LINTON e WARNER 2003).

Organismos sésseis têm sido considerados potencialmente propícios para utilização como bioindicadores ambientais, pois devem se adaptar ao meio ambiente devido à sua imobilidade (ALCOLADO 2007). Assim, a sua abundância ou sua presença (ou mesmo ausência) deve refletir às condições ecológicas em uma escala de tempo médio, ou em eventos estressantes mais recentes (ALCOLADO 2007). Os critérios mais vulgarmente utilizados para determinar um bom bioindicador marinho incluem: ser sedentário, fácil de identificar, abundante, disponível para a amostragem durante todo o ano, ser grande, ter tolerância à exposição em ambientes impactados (RAINBOW 1995; BOENING 1999; BATISTA et al. 2014). No caso de eventos episódicos, espécies de vida curta podem mostrar melhores resultados, já que incorporam apenas produtos que estão no ambiente mais recentemente (de alguns meses a um ano ou mais).

Os hábitos de vida de esponjas as permitem avaliar a saúde do meio marinho (CARBALLO e NARANJO 2002; CARBALLO et al. 2008). Pesquisas indicam que esponjas marinhas são adequadas tanto como bioindicadores de poluição por metais (PATEL et al. 1985), como para o monitoramento de distúrbios físico e químico (VALAVANIDIS et al. 2006). Além disso, as esponjas têm o potencial de fornecer informações excepcionalmente detalhadas sobre o oceano, incluindo as variações climáticas do passado (KARABANOV et al. 2000).

Devido a seus hábitos alimentares suspensívoros, as esponjas podem acumular vasta gama de poluentes a partir de materiais em suspensão, ou em fase dissolvida (RAO et al. 2006). Além disso, a sua morfologia é adaptada para maximizar a eficiência do fluxo de água, e ao mesmo tempo, permite que estes

organismos filtrem os contaminantes presentes na água (BATISTA et al. 2014). Por possuírem um nível de organização simples, é mais fácil a identificação de compostos absorvidos, e a realização das análises biológicas e químicas das respostas (MAHAUT et al. 2013). Além disso, as altas taxas de filtração (um quilo de esponja pode processar mais de 24.000 litros de água por hora e, assim como a capacidade de ingerir partículas 0,2-50 μm), permite a captura de poluentes de forma eficiente tanto nas formas dissolvidas quanto particuladas (TURON et al. 1997; PEREZ et al. 2004).

Os biomarcadores são os tecidos, células ou compostos químicos que seriam alterados com a presença de estressores (BODIN et al. 2004), isso inclui também respostas fisiológicas, comportamentais e energéticas dos organismos (ROSS et al. 2002). Com a finalidade de estimar efeitos de poluentes em sistemas biológicos, várias técnicas têm sido empregadas para detectar alterações no nível celular e molecular, proporcionando assim avisos fisiológicos precoces de estresse ambiental e/ou de poluição sobre os organismos expostos (GUNDERT-REMY et al. 2005). Neste campo, estudar a sinalização celular é uma área muito promissora da investigação, devido à complexidade dos mecanismos variando de transdução de estímulos para atividades celulares (BURLANDO et al. 2006). A resposta a diversos fatores de estresses tem sido relatada através da ativação da cascata de proteínas de sinalização de estresse, especialmente vias metabólicas fosforiladas (pP38 e JNK/MAPK) (WIENS et al. 2005).

Por outro lado, algumas pesquisas têm demonstrado o uso de metabólitos secundários como biomarcadores (KHOTIMCHENKO 1998; PETRONILHO et al. 2004). Estudos anteriores já foram capazes de diferenciar a fonte de matéria orgânica nas águas e nos sedimentos de um estuário, a partir da composição de ácidos graxos e esteróis da flora aquática, e mostraram que os esgotos domésticos foram reconhecidos pela associação a alguns ácidos graxos presentes em grandes quantidades na água eutrofizada (QUEMENEUR e MARTY 1992). Porém, até o momento, ainda há poucos relatos na literatura mundial sobre a tentativa do uso de produtos naturais de organismos marinhos como marcadores de ambientes contaminados por poluentes orgânicos ou por outros estresses ambientais (AGELL et al. 2001; PETRONILHO et al. 2004; FLEURY et al. 2000, 2004, 2008a, 2008b).

As esponjas, podem ser um grupo bentônico que irá suportar os efeitos das mudanças climáticas globais e se beneficiar da queda de outros grupos bentônicos (KELMO et al. 2013). Assim, esponjas como indicadores podem aumentar a compreensão de importantes questões globais, para que seja possível avaliar condições e tendências, e comparar diversas situações geográficas (LINTON e WARNER 2003). Os resultados das pesquisas podem auxiliar na tomada de decisões, e mostrar possíveis conexões entre as preocupações ambientais, sociais e econômicas.

Em estudo realizado em Arraial do Cabo, sudeste do Rio de Janeiro mostrou que a esponja *Mycale microsigmatosa* Arndt, 1927 é uma boa espécie indicadora das condições de impactos antrópicos (atividades humanas, níveis de coliformes e níveis de óleo (MURICY 1989). Já as espécies *Scopalina ruetzleri* (Wiedenmayer, 1977) e *Amphimedon viridis* Duchassaing e Michelotti, 1864 se mostraram com baixa sensibilidade, enquanto *Aplysina fistularis* (Pallas, 1766), *Tedania ignis* (Duchassaing e Michelotti, 1864), *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 e *Polymastia* sp. foram classificadas como de alta sensibilidade, por causa de sua total ausência ou extrema raridade na área poluída (MURICY 1989). Em um segundo estudo realizado na mesma região, os autores também mostraram que as esponjas *T.ignis* e *A.viridis*, abundantes no local foram frequentemente relacionadas com locais poluídos, sendo consideradas boas indicadoras (MURICY et al. 1991).

Os distúrbios causados por metais no ambiente marinho têm preocupado pesquisadores ao longo de muitos anos (ZHANG et al. 2012). O metais podem prejudicar a biota, em graus variáveis, dependendo da sua concentração e da fisiologia e biologia do organismo (CEBRIAN et al. 2007). As esponjas foram relatadas acumulando metais em altas concentrações, mesmo quando submetidas a constantes quantidades baixas de metais, sem mostrar mudanças externas aparentes (CEBRIAN e URIZ 2007).

Diversos autores observaram variações entre diferentes espécies na acumulação de poluentes, sugerindo que, por exemplo, a acumulação por metais é espécie-específico (PAN et al. 2011; DE MESTRE et al. 2012). Em estudo realizado na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro foi observado que as concentrações da maioria dos metais foram menores em *Paraleucilla magna* do que em *Hymeniacidon heliophila* (BATISTA et al. 2014). As diferenças nas

propriedades cumulativas entre diferentes espécies podem ser relacionadas à composição das comunidades de microrganismos simbiontes, composição do esqueleto, histologia e ciclo de vida (BATISTA et al. 2014). A Demospongiae de vida longa *H. heliophila*, e a Calcispongiae de vida curta *P. magna* são consideradas boas bioindicadoras de poluição por metais na região da Baía de Guanabara, por serem consideradas complementares nas análises clássicas desses poluentes (BATISTA et al. 2014).

O gênero *Drulia* possui duas esponjas de água doce que são predominantes na região da Amazônia Central. A acumulação de cobre por *Drulia cristata* (Weltner, 1895) e *D. uruguayensis* Bonetto e Ezcurra de Drago, 1969 mostrou que ambas espécies foram consideradas fortes indicadoras da capacidade de acumulação de metais, uma vez que a concentração desse metal no rio Tapajós era considerada extremamente baixa (DE BARROS et al. 2013). A presença de alumínio e silício apenas em *D. cristata* também indicou seu potencial como indicadora desses poluentes, pois estes elementos foram relatados nos solos e águas da bacia do Tapajós (DE BARROS et al. 2013).

Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) são poluentes ambientais formados durante a combustão incompleta de materiais orgânicos. Eles são introduzidos no ambiente a partir de uma variedade de fontes, incluindo os incêndios florestais, erupções vulcânicas, diesel e tabaco (CHÂTEL et al. 2011). *Himeniacidon heliophila* parece ser uma potencial candidata a integrar os programas de biomonitoramento em áreas costeiras, pois ela foi observada com níveis de HAP, refletindo a contaminação local (BATISTA et al. 2013). Esta espécie também tem outras características que facilitam o uso como bioindicadora de HAP, como sendo muito abundante nos locais poluídos (BATISTA et al. 2013), facilmente identificadas e amostradas no campo. Além disso, *H. heliophila* tem elevada tolerância às variações físico-químicas (por exemplo, concentração de amônia e temperatura), e as suas populações são bastante estáveis no ambiente (TURQUE et al. 2010).

A esponja *Mycale microsigmatosa* foi a única espécie encontrada em todos os transectos analisados durante o estudo realizado na Central Nuclear Brasileira, esta espécie é considerada tolerante à poluição orgânica (MURICY 1989), e pode também ser considerada como tolerante ao aumento de temperatura e a presença de cloro. Porém, sua menor abundância na superfície

próxima ao local de descarga sugere que é um bioindicador negativo para esse impacto. Enquanto que a esponja *Haliclona* sp. foi dominante e somente foi encontrada na superfície, sugerindo que esta espécie é oportunista e tolerante, e pode ser considerada um bioindicador positivo (VILANOVA et al. 2004).

1.4 Considerações finais

Através dessa revisão foi possível detectar que ainda há lacunas no conhecimento sobre as possíveis respostas das esponjas a distúrbios ambientais. Até o momento ainda há poucos trabalhos sobre as respostas das esponjas, principalmente na América do Sul, Antártida e África. Além disso, os tipos de respostas observadas ainda se restringem basicamente à taxa de crescimento, à densidade e à distribuição das esponjas. Isso mostra a importância de integração desses resultados à dinâmica de produção de defesas químicas por esses organismos marinhos, uma vez que a expressão fenotípica da resposta pode ser utilizada como biomarcador de estresse, atuando como um primeiro alerta do efeito de poluentes ou de alterações de fatores físicos e/ou biológicos, possibilitando assim, uma reação rápida para evitar ou diminuir o impacto do dano no ambiente. Maior integração desses resultados pode auxiliar no *status* de conservação desse grupo na costa brasileira. Alguns desses pontos serão avaliados no presente tese ao longo dos próximos capítulos.

2 RESPOSTA DAS COMUNIDADES MARINHAS E POPULAÇÕES DE ESPONJAS (DEMOSPONGIAE) AO LONGO DE DIFERENTES GRADIENTES DE IMPACTO AMBIENTAL

2.1 Introdução

Uma perturbação é um processo pelo qual um distúrbio de uma determinada magnitude provoca uma resposta em termos de densidades ou composição à uma espécie, população ou assembleia (GLASBY e UNDERWOOD 1996). Para que ocorra uma perturbação, o distúrbio deve ser grande o suficiente para superar a inércia de pelo menos uma população em uma assembleia (UNDERWOOD 1989). O efeito (impacto ou estresse) será referido como a resposta a uma perturbação (SELYE 1973).

Os ambientes aquáticos são continuamente submetidos a distúrbios antropogênicos, incluindo poluentes e outros impactos ecológicos, como a destruição do habitat, a introdução de espécies exóticas e a sobrepesca (WELLS 1999; CARBALLO e NARANJO 2002). Geralmente, considera-se que a perturbação induz alterações quantitativas e/ou qualitativas na estrutura e funcionamento das comunidades. As mudanças estruturais são normalmente avaliadas através de parâmetros da comunidade, que incluem a riqueza e os índices de diversidade e equitabilidade (LINTON e WARNER 2003). Alterações funcionais incluem medidas como a atividade fotossintética, taxa de crescimento e fecundidade, porém, não são monitoradas com tanta frequência como as mudanças estruturais (LINTON e WARNER 2003).

Para realizar a análise de impacto nessas comunidades é necessário monitorar o ambiente a ser estudado. O monitoramento ambiental pode ser realizado através de variáveis físico-químicas (CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente 357, 2005) e biológicas. Ou ainda, através de indicadores de pressão (estressores), que relacionam impactos antropogênicos em larga escala, incluindo mudanças nos padrões de uso da terra, carga de nutrientes, sedimentos, contaminantes para as bacias hidrográficas costeiras, e mudanças

nas comunidades (BORJA e DAUER 2008). O monitoramento de variáveis físicas e químicas é relevante na avaliação de impactos ambientais em ecossistemas aquáticos, tais como a identificação imediata de modificações nas propriedades físico-químicas da água (WHITFIELD 2001). O monitoramento biológico é a utilização de um ser vivo, denominado bioindicador, como ferramenta para acompanhamento da resposta de ecossistemas aos impactos ambientais (GOULART e CALLISTO 2003). O uso de índices utiliza métodos quantitativos previamente definidos, e pode ser replicável (MUNIZ et al. 2005; CREED e OLIVEIRA 2007). O Índice Relativo de Impactos Ambientais (IRIA) foi criado para avaliar os efeitos de fatores antrópicos impactantes mais expressivos, sobre o ambiente marinho em escala regional, na Baía de Ilha Grande (CREED e OLIVEIRA 2007).

A maioria dos efeitos ambientais investigados avaliaram as alterações que ocorrem principalmente com as espécies de corais e peixes recifais (PRZESLAWSKI et al. 2008). No entanto, muitos outros organismos, como as esponjas, são ecologicamente importantes para os recifes marinhos (DIAZ e RÜTZLER 2001). As esponjas marinhas são consideradas boas indicadoras ecológicas e são comumente utilizadas como biomonitores de estresse ambiental (MURICY 1989; CARBALLO e NARANJO 2002; VILANOVA et al. 2004; ALCOLADO 2007). Assim, a sua abundância ou a sua presença (ou mesmo a ausência) devem refletir as condições ecológicas, ou eventos fortes de estresse muito recentes (MURICY 1989; ALCOLADO 2007). Porém, segundo a revisão realizada por Bell e colaboradores (2015), apenas 7% dos estudos realizados com esponjas foram relacionados com conservação, impactos ambientais e monitoramentos de esponjas.

Variações nas condições ambientais podem resultar em mudanças na morfologia e assembleia de esponjas (BELL et al. 2006). Segundo Bell e Barnes (2001), a resposta a diferentes regimes ambientais poderia ser identificada, através de dados morfológicos ou de abundância de espécies. A vantagem de um método morfológico é que não requer nenhum treinamento taxonômico, apenas a capacidade de distinguir entre diferentes morfologias (BELL e BARNES 2001). Além de variações morfológicas, há algumas evidências de que fatores físicos e ambientais, como luz e profundidade, influenciam a produção de metabólitos secundários por organismos marinhos (BECERRO e PAUL 2004).

As análises dos constituintes químicos produzidos pelos organismos marinhos no ambiente natural ou obtidos de experimentos ecológicos têm sido feita através de métodos cromatográficos e espectroscópicos (WRIGHT e JEFFREY 1987; CHEN et al. 2017; PETRAS et al 2017). Como alternativa às técnicas convencionais, a espectroscopia Raman tem sido apontada como uma ferramenta de grande potencial para uso na identificação destes metabólitos, visto que é não destrutiva e permite a identificação de substâncias químicas diretamente na amostra *in situ* (nomenclatura utilizada quando as medidas espectroscópicas são realizadas diretamente na amostra, sem a necessidade tratamento prévio (ex. preparação de extratos)). Além disso, apresenta uma baixa sensibilidade ao conteúdo de água presente em amostras biológicas e a utilização de pequenas quantidades de material (macro e microscópico) (MAIA et al. 2014, GERMOND et al. 2017).

Compreender as causas da variação metabólica pode fornecer informações valiosas não apenas sobre os fatores que afetam a produção de metabólitos secundários, mas também sobre as circunstâncias em que os produtores investem mais em defesa química (BECERRO e PAUL 2004). Sendo assim, a expressão fenotípica da resposta é utilizada como biomarcador de estresse, atuando como um alerta do efeito de poluentes ou de alterações de fatores físicos, possibilitando uma reação rápida para evitar ou diminuir o impacto do dano no ambiente. E testar se as populações e/ou comunidades respondem de forma clara e direta aos distúrbios medidos através do índice Relativo de Impactos Ambientais (IRIA). Esses resultados podem auxiliar no prognóstico dos efeitos desses estresses sobre a possível redução da biodiversidade marinha na zona costeira.

2.2 Objetivo geral

Avaliar como as comunidades bentônicas, assembléias de peixes e populações de esponjas marinhas (Demospongiae), respondem aos diferentes tipos de distúrbios na Baía de Ilha Grande, RJ baseado no Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA) (CREED e OLIVEIRA 2007).

2.2.1 Objetivos específicos

1. Caracterizar através do Índice Relativo de Impacto Ambiental treze locais na Baía de Ilha Grande (BIG).
2. Quantificar os nutrientes, Ortofosfato (PO_4^{3-}), Amônio (NH_4^+), Nitrito (NO_2^-) e Nitrato (NO_3^-), em treze locais da BIG, e relacionar com o Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA).
3. Caracterizar treze comunidades bentônicas marinhas da BIG, e relacionar com o Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA).
4. Caracterizar treze assembleias de peixes da BIG, e relacionar com o Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA).
5. Avaliar se as esponjas marinhas mais abundantes nos treze locais de estudo apresentam relação com o Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA), e/ou com a produção de metabólitos secundários

2.3 Hipóteses

1. Todos os parâmetros testados (concentração de nutrientes, abundância de organismos da comunidade bentônica, abundância de organismos da assembleia de peixes) tem relação positiva com o IRIA.

2. A produção de metabólitos secundários das esponjas marinhas é menor quando o IRIA e o tamanho da população são maiores.

2.4 Material e Métodos

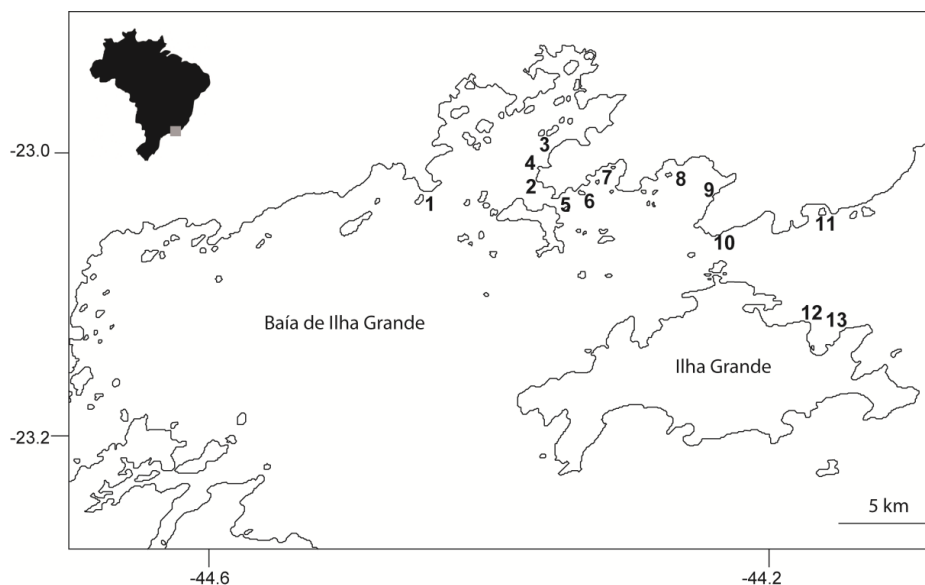
2.4.1 Área de estudo

A Baía de Ilha Grande está localizada no sul do Estado do Rio de Janeiro ($22^{\circ}50'-23^{\circ}20'S$, $44^{\circ}00'-44^{\circ}45'W$), e situada entre as cidades do Rio de Janeiro e São Paulo. Ela possui grande beleza paisagística, uma rica fauna e flora, sendo um santuário de biodiversidade singular (CREED et al. 2007). A região possui o maior número de unidades de conservação do Estado do Rio de Janeiro, embora a presença de um terminal petrolífero no continente, um estaleiro e um terminal de minério produzam um tráfego marítimo considerável. Adicionalmente, a presença de espécies invasoras representa um grande risco de impacto para os ecossistemas naturais da região (PAULA e CREED 2005), além do aumento da urbanização que também vem causando diversas alterações ambientais (CREED et al. 2007).

Foram selecionados 13 locais ao longo da costa da Baía de Ilha Grande, RJ (Figura 7,

Tabela 1).

Figura 7- Locais de estudo na Baía de Ilha Grande, RJ.



Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

Tabela 1 - Locais de estudo com coordenadas geográficas

	Locais	Latitude	Longitude
1	Ponta Fina	23°1,532'S	44°26,852'W
2	Bica	23°1,173'S	44°21,696'W
3	Lage Branca	23°59,827'S	44°21,237'W
4	Tanguá	23°0,609'S	44°21,671'W
5	Vila Velha	23°1,684'S	44°20,913'W
6	Bonfim	23°1,349'S	44°19,953'W
7	Anil (Centro de Angra)	23°0,903'S	44°18,944'W
8	Machado	23°0,469'S	44°15,783'W
9	Biscaia	23°1,683'S	44°14,257'W
10	Costão próximo ao TEBIG	23°3,175'S	44°13,919'W
11	Ilha de Conceição de Jacaré	23°2,185'S	44°9,578'W
12	Ilha do Abraão	23°6,899'S	44°9,995'W
13	Abraãozinho	23°7,952'S	44°9,116'W

Legenda – TEBIG (Terminal da Baía de Ilha Grande)

Fonte: A autora, 2018.

2.4.2 Caracterização dos locais de acordo com os graus de impacto

Os locais foram categorizados baseados no Índice Relativo de Impactos Ambientais (IRIA) adaptado de Creed e Oliveira (2007). Os dados sobre impactos foram compilações de observações durante os trabalhos de campo, e levantamentos da literatura e de fontes governamentais. Para quantificar os limites de influência dos fatores potencialmente impactantes, a região de estudo foi subdividida em polígonos centralizados nos pontos de estudo, formando uma área de influência de aproximadamente 2 km de extensão. Todos os fatores e formas de quantificação foram atualizados e adaptados de Creed e Oliveira (2007):

- Desenvolvimento urbano: Foram quantificados por meio da soma das áreas urbanas (em Km), em faixa terrestre pertencente à cada perímetro, e por meio de Mapas de Uso de Solo da Fundação CIDE (Centro de Informações e Dados do Rio de Janeiro). Estes dados foram convertidos proporcionalmente em escala de 0 (menor área urbanizada por local) a 1 (máxima).
- Lançamento de esgoto: Os dados foram retirados das informações de Creed e Oliveira (2007).
- Marinas, cais e ancoradouros: Foram quantificados marinas, cais e ancoradouros dentro de cada perímetro. O mapeamento foi realizado através do “Google Earth” e complementado por observações de campo. Estes dados foram convertidos proporcionalmente em escala de 0 (sem marinas, cais ou ancoradouros no polígono) a 1 (número máximo de marinas, cais ou ancoradouros encontrados em um polígono).
- Maricultura: Foram quantificadas as atividades de maricultura próximas aos locais de estudos, através de observações durante o trabalho de campo, por meio de observação direta. Foram atribuídas pontuações de: zero=nenhuma atividade no local; 0,2=1 atividade no local; 4=2-4 atividades no local; 10=>4 atividades no local.
- Terminal de Petróleo/ Estaleiro/ Porto e Usina Nuclear: Esses fatores foram considerados impactos pontuais, conferidos a eles graus de

impacto de acordo com as distâncias de cada local de estudo. Para pontuar os impactos potenciais das usinas nucleares foram conferidos graus de acordo com a distância do ponto de estudo às usinas: 1 para distância ≤ 5 km; zero para os demais locais. Para pontuar impactos potenciais das outras três atividades foram conferidas pontuações de: 1 para os locais de estudo distantes de 0 a 5km da atividade; 0,5 para locais de estudo distantes de 5 a 10km. Para locais com distâncias superiores a 10km foi conferida a pontuação zero.

- Presença de espécies exóticas: A quantificação das espécies exóticas foi feita baseada nos dados de monitoramento das comunidades. Foi conferida uma pontuação de zero=ausente; 0,1=uma espécie presente; 0,6=duas espécies presentes e 1= três espécies presentes.

Foram atribuídos pesos para cada fator de acordo com a extensão de seu impacto: de um a quatro. Foram levadas em consideração a extensão espacial, duração, e frequência de ocorrência de cada fator impactante, além do sinergismo e presença de efeitos cumulativos. Os pesos foram aplicados no cálculo final do IRIA, que variou entre 0 e 1, como a média aritmética dos fatores multiplicados por seus respectivos pesos.

2.4.3 Análise de nutrientes da água

Foram coletadas amostras de água de cada local de estudo para avaliar a concentração de nutrientes. As amostras foram filtradas a vácuo com filtro de fibra de vidro Macherey-Nagel de 25 μ m de espessura e 24 mm de diâmetro, acondicionadas em tubos falcon estéreis, e congeladas para análise posterior. A concentração dos nutrientes da água do mar (Ortofosfato (PO_4^{3-}), Amônio (NH_4^+), Nitrito (NO_2^-) e Nitrato (NO_3^-)), de cada local de coleta foi avaliada através dos parâmetros descritos por Grasshoff et al. (1999), através do aparelho FIA (*flow injection analysis*) Autosamples – Modelo AIM 3200. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Fitoplâncton da

Universidade do Estado do Rio de Janeiro, através da colaboração com o Professor Dr. Marcelo Manzi Marinho.

Os dados de nutrientes foram comparados através da distância Euclidiana, após serem transformados para raiz quadrada e padronizados. As diferenças entre a quantidade de nutrientes dos locais em relação ao IRIA foram testadas através da análise DistLM (Distância baseada em modelos lineares). Em seguida, foi realizada uma análise de componentes principais (PCO). As análises multivariadas foram realizadas utilizando o programa PRIMER 6.1.13 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research) (CLARKE e WARWICK 2001). Uma regressão múltipla foi realizada no programa de estatística R (TEAM 2013), posteriormente para avaliar a relação entre a concentração de cada um dos diferentes nutrientes e o IRIA.

2.4.4 Levantamento das comunidades bentônicas submetidas a diferentes graus de distúrbios ambientais

Em cada local de estudo foram colocados cinco transectos de 10 m, paralelos aos costões rochosos, em profundidades que variaram de 2 a 4 metros. Seis quadrados (0,50 x 0,50m) foram lançados acima ou abaixo de cada transecto, de forma aleatória sorteada anteriormente (modificado de LAGES et al. 2011). Cada quadrado foi subdividido em 25 quadrados de área de 0,10 x 0,10m.

A coleta dos dados foi realizada entre junho e julho de 2016, através de mergulho autônomo, seguindo a metodologia utilizada por Lages e colaboradores (2011) e Mantelatto e colaboradores (2013), onde foi registrado o organismo com maior porcentagem de cobertura espacial em cada subdivisão do quadrado amostral. As espécies com maiores áreas de cobertura foram identificadas *in situ*. Essa metodologia visual é muito eficiente na amostragem, pois possui melhor refinamento taxonômico e maior sensibilidade para identificação de organismos, quando comparado a métodos digitais (MANTELATTO et al. 2013).

A composição da comunidade foi analisada através da porcentagem de cobertura média das principais espécies ocupadoras de espaço. Em seguida calculada a riqueza (S), o Índice de Diversidade de Shannon-Wiener (H') e a Equitabilidade de Pielou (J) (MAGURRAN 1988), para cada local de estudo. Os dados da comunidade também foram comparados através do Índice de Similaridade de Bray-Curtis, após serem transformados para raiz quadrada. Para identificar as espécies que mais contribuíram para as similaridades/dissimilaridades entre os locais de estudo foi utilizada a análise de SIMPER (*Similarity percentages*). As diferenças entre os locais em relação ao IRIA foram testadas através da análise DistLM (Distância baseada em modelos lineares). Em seguida, foi realizada uma análise de coordenadas principais (PCO). Os parâmetros de comunidade e as análises multivariadas foram realizados utilizando o programa PRIMER 6.1.13 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research) (CLARKE e WARWICK 2001).

2.4.5 Levantamento das assembleias de peixes

A amostragem foi realizada por método visual utilizando mergulho autônomo nos 13 locais de estudo. A listagem foi realizada construindo uma lista cumulativa de todas as espécies de peixes que ocorreram durante o tempo de mergulho, dentro de cinco transectos de 10 metros, considerando a largura de um metro para cima e um metro para baixo das trenas.

Todos os peixes foram contados ao longo do transecto, exceto as espécies crípticas que foram contadas cuidadosamente ao longo do substrato (e também vistoriando sob as rochas e as fendas), enquanto o mergulhador retornava ao início da trena. Esta abordagem assegurou que as espécies que nadariam mais afastadas ao costão em relação ao observador fossem as primeiras a serem contadas. Este método permite boa estimativa da densidade para todas as espécies (FLOETER et al. 2007). Foram também atribuídas a essas espécies suas categorias tróficas. Observados em Fishbase.org, Ferreira et al. (2007) e Floeter et al. (2007).

A composição da assembleia de peixes foi analisada da mesma forma que a composição da comunidade bentônica.

2.4.6 Levantamento da área de ocupação das populações de esponja

Ao longo dos transectos de levantamento da comunidade bentônica também foram registradas as duas esponjas de maior abundância encontrada nos locais, *Desmapsamma anchorata* (Carter, 1882) e *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864). As esponjas foram identificadas por observação visual ao longo dos cinco transectos. Todas os espécimes que estavam situados um metro acima e um metro abaixo dos transectos foram registrados com o auxílio da Câmera Canon PowerShot G12 (Totalizando 100m²). Em laboratório, as áreas das esponjas foram calculadas com o auxílio do Software Coral Point Count com extensão para Excel (CPCe). Ao final, o total das áreas foi somado para se obter a área total de ocupação das diferentes populações de esponja por local.

2.4.7 Análise do perfil químico das esponjas

Espécimes das duas esponjas de maior abundância foram coletados nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande, RJ: *Desmapsamma anchorata* e *Mycale angulosa*. Após coletadas, essas esponjas foram etiquetadas e imediatamente congeladas, para posterior análise do perfil químico em laboratório. Todas as amostras foram analisadas diretamente dos tecidos das esponjas (*in situ*), separadamente, através do método não destrutivo de espectroscopia RAMAN. As análises foram realizadas no equipamento Bruker modelo: RFS 100 com laser de Nd:YAG operando em 1064nm, com resolução espectral de 4 cm⁻¹, 512 scans e potência do laser na amostra variando de 70 a 100 mW. Cada amostra foi introduzida em um dispositivo próprio para análise com incidência de luz direta. Os espectros foram obtidos, com as amostras secas e homogeneizadas por maceração. Este estudo foi realizado em colaboração com a Dra. Lenize Fernandes Maia e com o Dr. Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira, ambos do Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular,

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG.

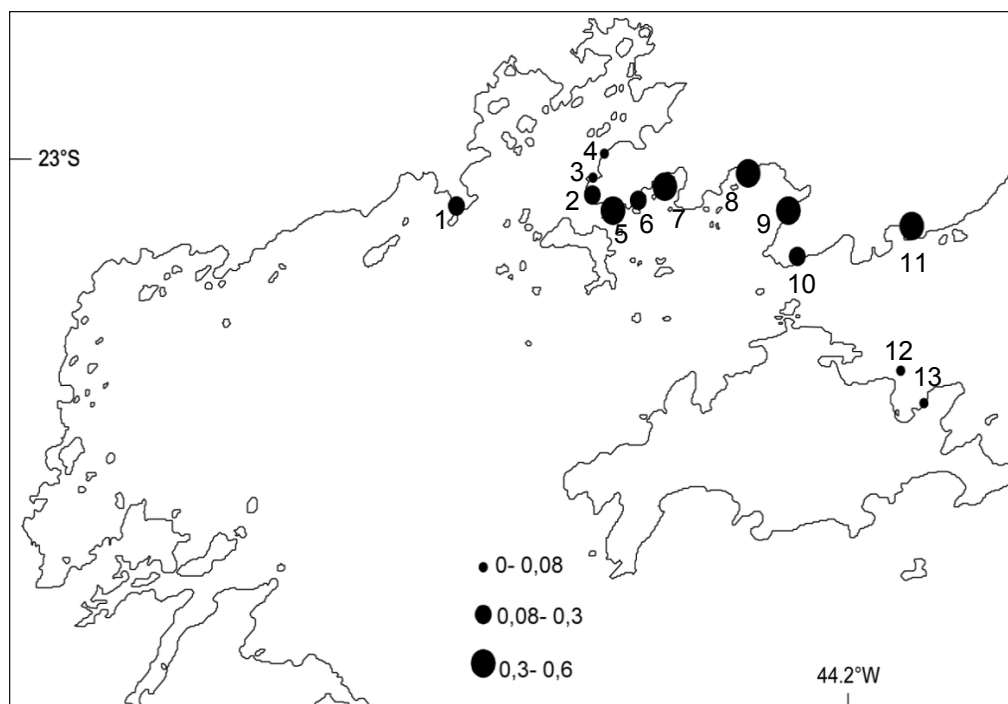
Os dados de Espectroscopia foram transformados em dados binários de presença e ausência das bandas e foram comparados através do Índice de Similaridade de Jaccard. As relações entre os locais, o IRIA e o tamanho das populações foram testadas através da análise DistLM (Distância baseada em modelos lineares). Em seguida foi realizada uma análise de coordenadas principais (PCO). As análises foram realizadas utilizando o programa PRIMER 6.1.13 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research)(CLARKE e WARWICK 2001).

2.5 Resultados

2.5.1 Caracterização dos locais de acordo com os graus de impacto

Dos locais de estudo analisados, nenhum apresentou valor de IRIA igual a zero, ou seja, com ausência total de impactos. Os maiores valores foram encontrados próximos aos centros urbanos de Angra dos Reis (Anil e Machado) e Conceição de Jacareí (Ilha de Conceição de Jacareí). Já os menores valores foram encontrados na Baía da Ribeira (Lage Branca e Tanguá), e no entorno da Ilha Grande (Ilha do Abraão e Abraãozinho) (Tabela 2, Figura 8). O impacto de maior influência foi o desenvolvimento urbano, e o menor foi a presença das Usinas Nucleares.

Figura 8- Índice Relativo de Impacto Ambiental para os 13 locais de estudo.



Legenda: 1: Ponta Fina; 2: Bica; 3: Lage Branca; 4: Tanguá; 5: Vila Velha; 6: Bonfim; 7: Anil; 8: Machado; 9: Biscaia; 10: Costão próximo ao TEBIG; 11: Ilha de Conceição de Jacareí; 12: Ilha do Abraão; 13: Abraãozinho.

Fonte: A autora, Exame de Qualificação, 2015.

Tabela 2 - Fatores potencialmente impactantes para cada local de estudo na Baía de Ilha Grande (RJ), e quantificados através do Índice Relativo de Impacto Ambiental (IRIA).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	IRIA
Peso do fator	4	2	3	1	3	3	3	3	4	
Lage Branca	0.04	0	0	0	0	0	0	1.5	0	0.06
Abraãozinho	0.04	0.66	0.75	0.2	0	0	0	0	0	0.06
Tanguá	0.36	0	0	0	0	0	0	1.5	0	0.07
Ilha do Abraão	0	0	0	0	1.5	0	0	0	0.4	0.07
Bica	0.92	0	0	0	0	0	0	1.5	0	0.09
Ponta Fina	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0.11
Bonfim	0.96	0	0.75	0	0	1.5	0	3	0.4	0.25
Costão próximo ao TEBIG	0.32	0	0	0	3	1.5	0	0	2.4	0.28
Vila Velha	0.8	0	0	4	0	0	0	3	0	0.3
Biscaia	1.2	0.66	0.75	0	3	3	0	1.5	0	0.39
Ilha de Conceição de Jacaré	2.24	2	0.75	4	1.5	0	0	0	0	0.40
Machado	1.44	2	1.5	0	1.5	3	0	1.5	0	0.42
Anil	3.4	2	3	0	1.5	1.5	0	3	0	0.55

Legenda: A: Desenvolvimento Urbano; B: Lançamento de Esgoto; C: Marinas, cais e ancoradouros; D: Maricultura; E: Terminal de Petróleo; F: Estaleiro Verolme; G: Usinas Nucleares; H: Porto de Angra dos Reis; I: Espécies Exóticas.

Fonte: A autora, 2018.

2.5.2 Análise de nutrientes da água

A maior concentração de nitrato foi observada no costão do Machado (62,06µ/l), enquanto que a menor concentração foi observada na Bica (11,48 µ/l). Com relação ao nitrito o local com maior concentração foi a Lage Branca (4,47 µ/l) e com a menor foi a Ilha do Abraão (2,08 µ/l). Bonfim (590,05 µ/l) foi o local que apresentou maior concentração de amônio, enquanto que Tanguá apresentou a menor (273,42 µ/l). Quanto a concentração de Ortofosfato, Biscaia (236,56 µ/l) foi o local com maior concentração e o menor, Tanguá (134,17 µ/l) (Tabela 3).

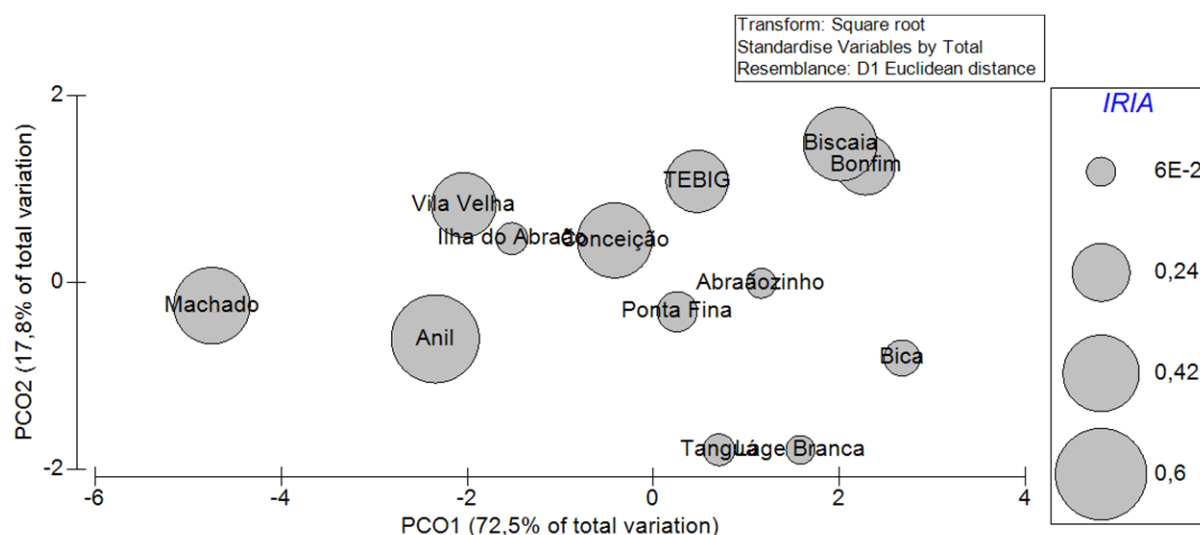
Tabela 3 - Concentração de nutrientes observada nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande.

Locais	Nitrato (NO₃⁻µg/l)	Nitrito (NO₂⁻µg/l)	Amônio (NH₄⁺ µg/l)	Ortofosfato (PO₄³⁻µg/l)
Lage Branca	16.29	4.47	333.64	151.23
Abraãozinho	17.48	3.06	491.75	147.24
Tanguá	19.73	3.49	273.42	134.17
Ilha do Abraão	32.74	2.09	412.53	174.31
Bica	11.48	4.37	499.79	143.41
Ponta Fina	23.60	3.65	488.77	166.70
Bonfim	11.67	2.71	590.05	185.74
Costão próximo ao TEBIG	21.58	3.11	559.22	230.41
Vila Velha	38.41	2.43	569.53	165.97
Biscaia	12.71	2.73	542.65	236.56
Ilha de Conceição de Jacaré	26.27	2.67	466.06	184.66
Machado	62.06	2.43	371.79	181.63
Anil	43.15	3.78	466.06	178.86

Fonte: A autora, 2018.

Foi observado um efeito marginalmente significativo entre o IRIA e a quantidade de nutrientes presentes nos locais de estudo (Pseudo $F = 3,25$; $p = 0,056$) (Figura 9). A regressão múltipla demonstrou relação significativa entre a quantidade de nutrientes e o IRIA ($R = 0,70$; $p = 0,02$). Especificamente as diferenças foram observadas na concentração de Nitrato ($t = 3,33$; $p = 0,01$), Ortofosfato ($t = 2,45$; $p = 0,04$) e o IRIA.

Figura 9 - Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação à quantidade de nutrientes e os níveis de impacto.



Fonte: A autora, 2018.

2.5.3 Levantamento das comunidades bentônicas submetidas a diferentes graus de distúrbios ambientais

Os índices de riqueza (S), diversidade (H') e uniformidade (J') foram estimados para os treze locais (Tabela 4). A riqueza dos principais organismos amostrados variou de 6 a 15 táxons. O local que apresentou maior riqueza foi Bonfim e maior diversidade de espécies foi TEBIG. O de menor riqueza foi Bica

e de menor diversidade foi Lage Branca. Já com relação a equitabilidade, Vila Velha se mostrou mais uniforme, enquanto que o local menos uniformes foi Lage Branca.

Tabela 4 – Dados de estrutura de comunidades bentônicas (Riqueza (S), Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') e uniformidade Pielou (J')) para os diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.

Locais de estudo	S	J'	H'(loge)
Lage Branca	8	0.31	0.65
Abraãozinho	12	0.47	1.17
Tanguá	12	0.44	1.1
Ilha do Abraão	10	0.41	0.95
Bica	6	0.51	0.92
Ponta Fina	10	0.54	1.23
Bonfim	15	0.47	1.28
Costão próximo ao TEBIG	14	0.49	1.30
Vila Velha	9	0.57	1.24
Biscaia	9	0.50	1.10
Ilha de Conceição de Jacareí	11	0.54	1.29
Machado	14	0.44	1.15
Anil	13	0.47	1.22

Fonte: A autora, 2018.

Não foi observada relação entre as comunidades e os diferentes níveis de impacto. Os grupos taxonômicos mais representativos observados durante o levantamento foram as algas, seguida dos cnidários, exceto no Costão próximo ao TEBIG, Ilha de Conceição de Jacareí, Ilha do Abraão e Abraãozinho (Tabela 5). As espécies mais encontradas nos diferentes locais foram o zoantídeo *Palythoa caribaeorum* e a alga formadora de tapete (*turf*) (Apêndice 1). Porém,

não houve nenhuma relação entre a abundância do grupo de zoantídeos e/ou algas com o grau de distúrbios dos locais.

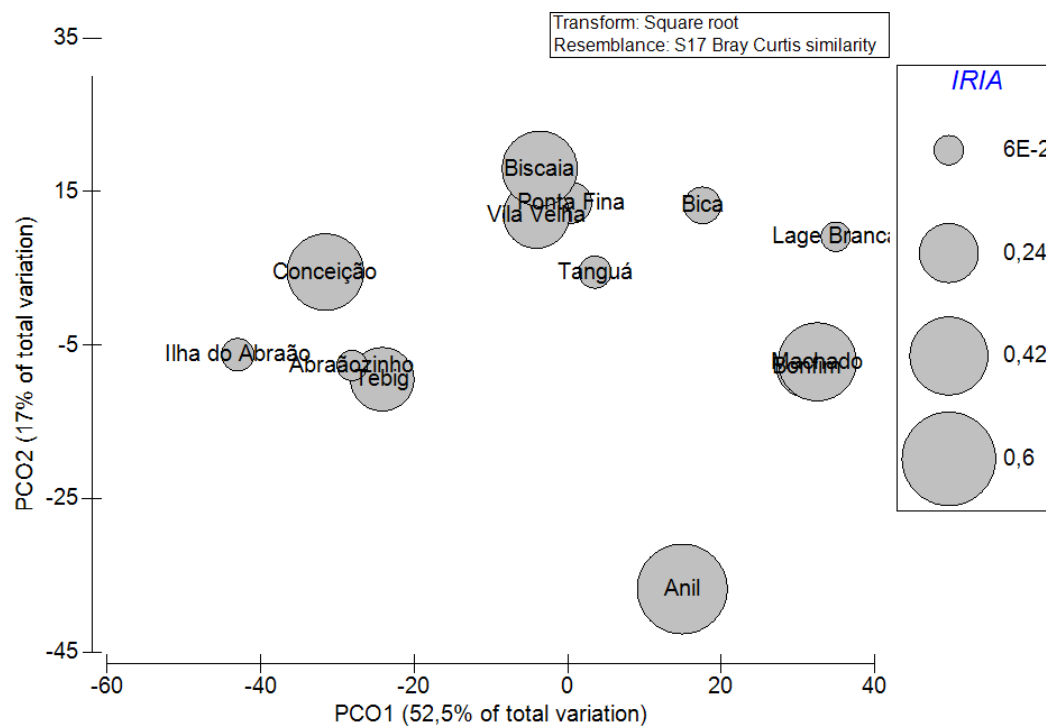
Tabela 5 - Porcentagem de grupos taxonomicos encontrados nos diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.

	Algae (%)	Porifera(%)	Cnidaria (%)	Outros (%)
Lage Branca	96.6	3.2	0.2	0
Abraãozinho	40.1	1.87	56.8	1.2
Tanguá	65.8	5.6	28.4	0.2
Ilha do Abraão	17.2	4.17	78.2	0.5
Bica	92.6	1	6.4	0
Ponta Fina	69.0	3.2	27.8	0
Bonfim	92.2	6	1.8	0
Costão próximo ao	40.8	12.2	46.6	0.4
TEBIG				
Vila Velha	47.2	9.4	43.2	0.2
Biscaia	55.2	0.8	44	0
Ilha de Conceição de	29.5	10.9	58.3	0.7
Jacareí				
Machado	93.6	6	0.4	0
Anil	83.0	15.6	1	0.4

Fonte: A autora, 2018.

De acordo com a análise de coordenadas principais (PCO) (Figura 10) podemos observar que ocorreu uma separação entre as comunidades em dois grupos: de um lado do Canal Central (Ponta Fina, Lage Branca, Tanguá, Bica, Vila Velha, Bonfim, Anil, Machado e Biscas e do outro lado (TEBIG, Ilha de Conceição de Jacareí, Ilha do Abraão e Abraãozinho). O teste DistLM mostrou que não existe relação significativa entre os locais e o IRIA (Pseudo F= 0,49; p = 0,78).

Figura 10– Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação a comunidade bentônica e os níveis de impacto.



Fonte: A autora, 2018.

2.5.4 Levantamento das assembleias de peixes

Os locais que apresentaram maior abundância de espécies foram Ilha do Abraão, Abraãozinho e Ponta Fina. E os que apresentaram menor abundância foram Bonfim, TEBIG, seguido de Conceição de Jacareí (Apêndice 2). Foram encontrados 9 níveis tróficos diferentes, desses os Predador de invertebrados vágéis e os onívoros foram os que apresentaram maior abundância total, enquanto que os carnívoros e planctívoros foram os que apresentaram menor abundância (Tabela 6). Os peixes mais comuns encontrados em todos os locais de monitoramento foram *Haemulon steindachneri* e *Haemulon album*, este segundo encontrado em maior abundância no Anil e em Conceição, locais com maior IRIA. Enquanto que os organismos menos encontrados foram *Gymnothorax moringa*, *Elacatinus figaro*, *Serida fasciata* e *Fistularia tabacaria*.

Tabela 6 - Porcentagem de níveis tróficos encontrados nas assembleias de peixes nos diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, RJ.

	Categoria trófica								
	Carnívoro	Herbívoros	Herbívoros raspadores	Onívoros	Piscívoros	Planctívoros	Predador de invertebrados	Predador de invertebrados sésseis	Predador de invertebrados vágies
Lage Branca	1.43	0.00	0.00	68.57	0.00	0.00	0.00	0.00	30.00
Abrãozinho	0.51	28.72	1.03	6.15	0.51	0.00	34.87	2.05	26.15
Tanguá	0.00	3.25	0.65	15.58	0.00	0.00	0.00	1.30	79.22
Ilha do Abraão	0.37	6.62	0.37	47.79	0.00	0.00	30.15	6.62	8.09
Bica	0.74	0.00	0.00	28.15	1.48	0.00	0.00	1.48	68.15
Ponta Fina	0.00	3.14	0.00	19.90	1.05	2.09	0.00	5.24	68.59
Bonfim	0.00	0.00	0.00	14.29	14.29	0.00	28.57	0.00	42.86
Costão próximo ao TEBIG	0.00	0.00	0.00	67.86	0.00	0.00	0.00	0.00	32.14
Vila Velha	1.41	7.04	14.08	28.17	2.82	0.00	0.00	5.63	40.85
Biscaia	0.00	0.00	0.76	30.53	0.00	0.00	32.06	0.00	36.64
Ilha de Conceição de Jacaré	0.00	16.00	0.00	4.00	2.00	0.00	62.00	0.00	16.00
Machado	0.00	0.00	0.00	56.90	0.00	0.00	0.00	0.00	43.10
Anil	0.00	10.34	0.00	18.97	1.72	0.00	53.45	0.00	15.52

Fonte: A autora, 2018.

Os índices de riqueza (S), diversidade (H') e uniformidade (J') foram estimados para os 13 treze locais (Tabela 7). A riqueza dos principais peixes amostrados variou de 5 a 14 táxons. Já com relação a equitabilidade, Bonfim se mostrou mais uniforme, enquanto que o local menos uniforme foi Tanguá. Os locais que apresentaram maior abundância de espécies de peixes recifais foram Ilha do Abraão, Abraãozinho e Ponta Fina. E os que apresentaram menor abundância foram Bonfim, TEBIG, seguido de Conceição de Jacareí.

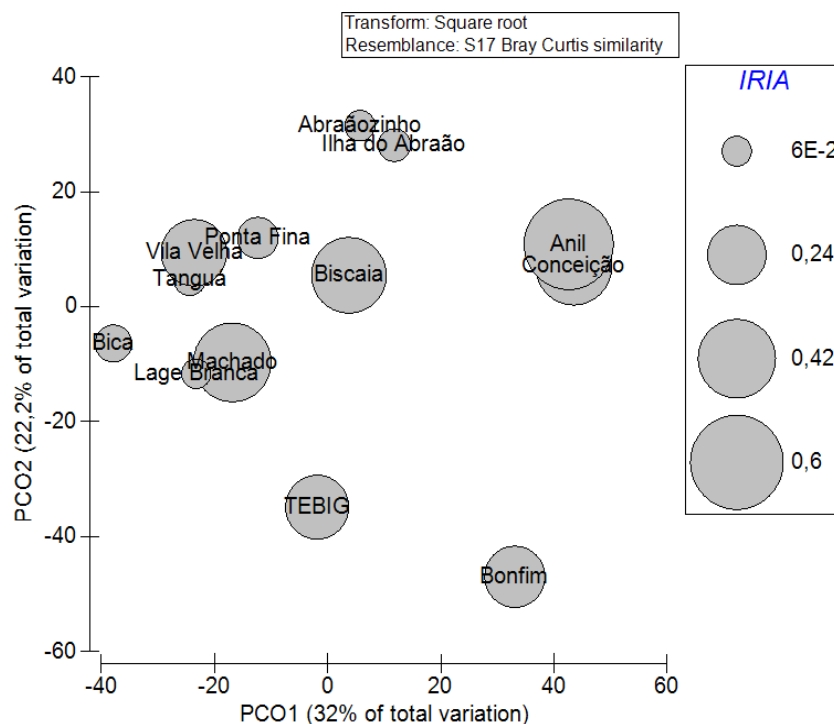
Tabela 7 – Dados de estrutura da assembleia de peixes(Riqueza (S), Índice de diversidade de Shannon-Wiener(H') e uniformidade Pielou (J') para os diferentes locais de estudo na Baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.

Locais de estudo	S	J'	H'(loge)
Lage Branca	7	0.91	1.77
Abraãozinho	14	0.89	2.35
Tanguá	10	0.84	1.94
Ilha do Abraão	12	0.87	2.16
Bica	9	0.86	1.88
Ponta Fina	13	0.87	2.23
Bonfim	5	0.99	1.60
Costão próximo ao TEBIG	5	0.90	1.44
Vila Velha	11	0.92	2.21
Biscaia	10	0.90	2.08
Ilha de Conceição de Jacareí	6	0.91	1.63
Machado	9	0.86	1.88
Anil	8	0.91	1.89

Fonte: A autora, 2018.

Não foi observada relação entre a assembleia de peixes e os diferentes níveis de impacto. A análise DistLM não mostrou relação entre os IRIA e a assembleia. Não foi observado nenhum padrão de distribuição das espécies entre as comunidades (Figura 11).

Figura 11– Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação a assembleia de peixes e os níveis de impacto.

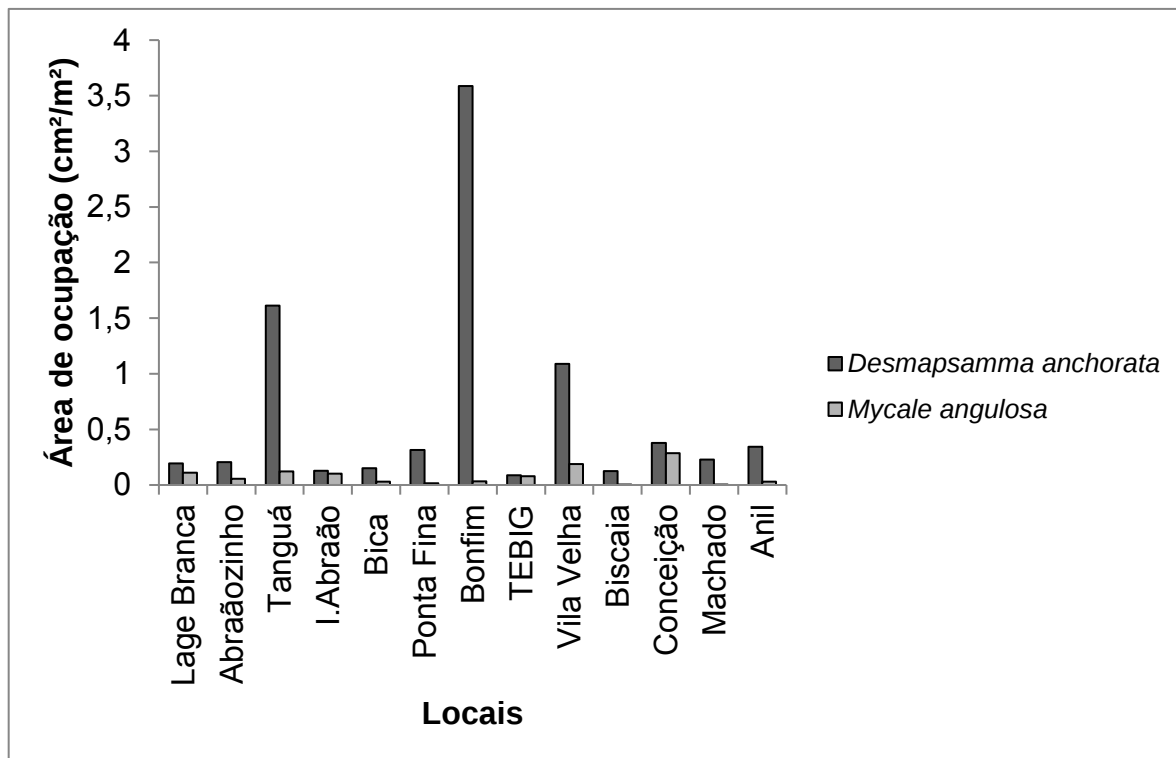


Fonte: A autora, 2018.

2.5.5 Levantamento da área de ocupação das populações de esponja

A análise de dados da área de ocupação das duas espécies de esponjas mais abundantes nos locais de estudo mostrou que a esponja *Desmapsamma anchorata* ocupou maior área que a *Mycale angulosa*. Os locais: Bonfim (3.59 cm²/m²), Tanguá (1.61cm²/m²) e Vila Velha (1.09cm²/m²) foram os que apresentaram maior área quando comparados com os outros. Por outro lado, os locais que possuíam maior área de ocupação de *M. angulosa* foram: Ilha de Conceição de Jacareí (0.29cm²/m²), Vila Velha (0.18 cm²/m²) e Tanguá (0.12 cm²/m²) (Figura 12).

Figura 12 – Área de cobertura das populações de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882e *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864) nos treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande.



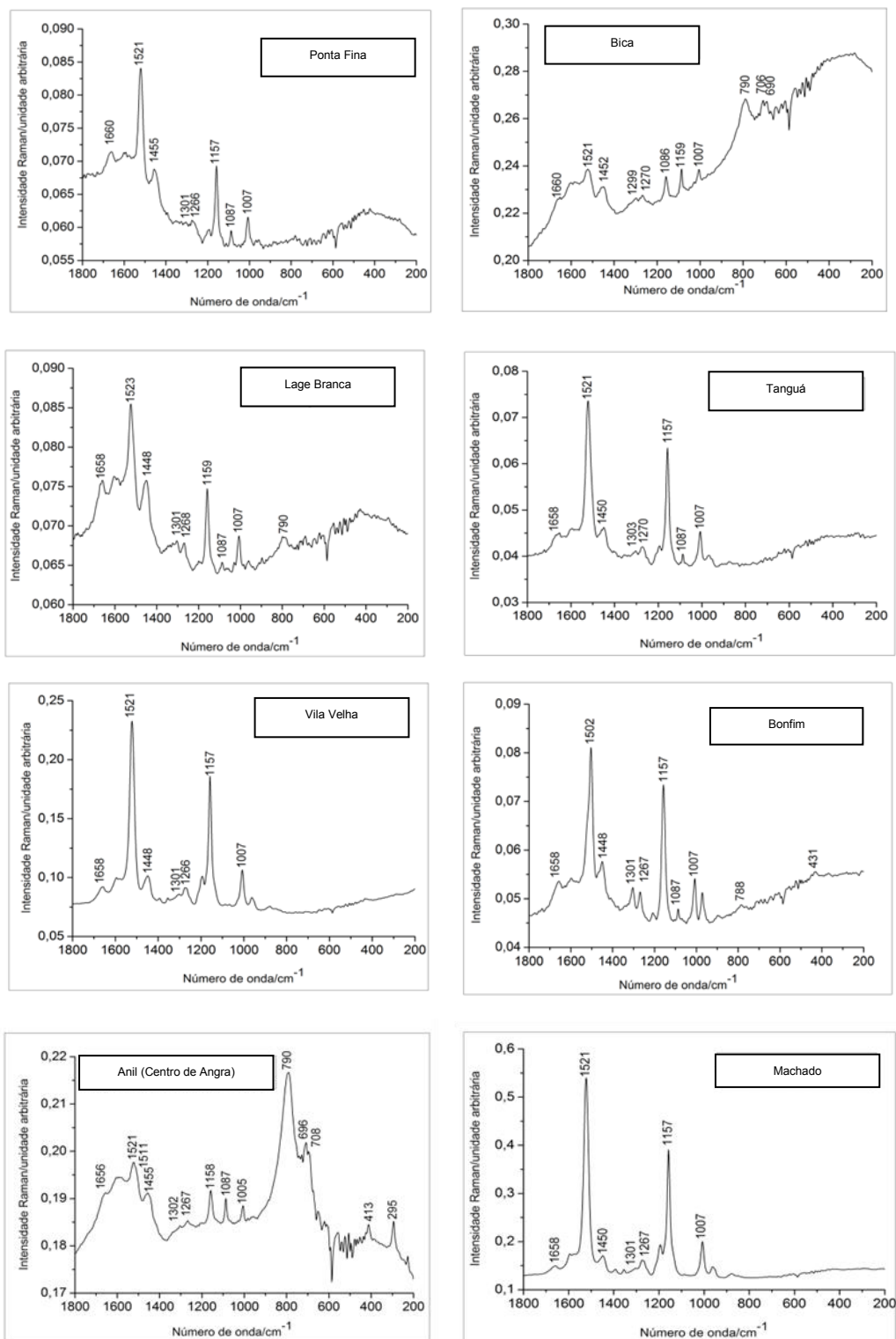
Fonte: A autora, 2018.

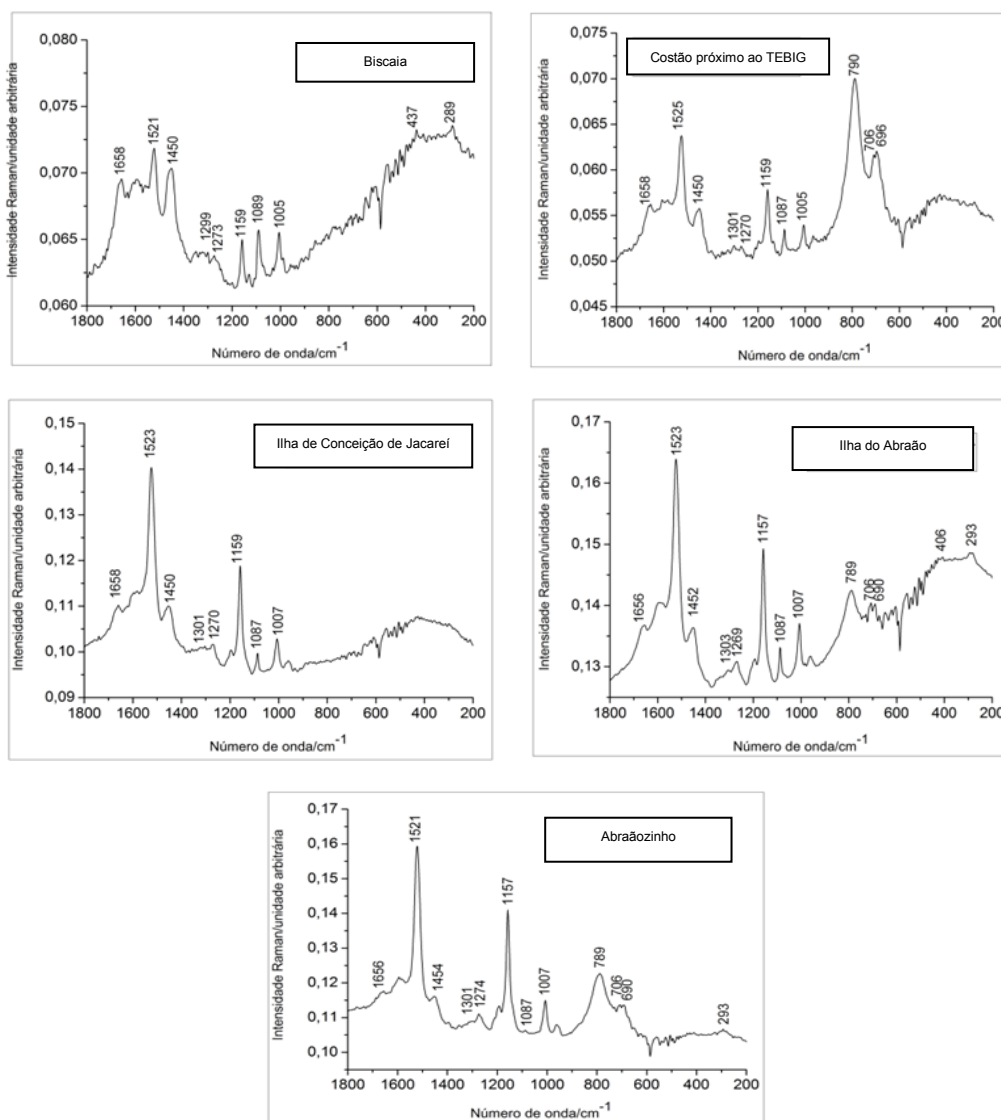
2.5.6 Análise do perfil químico das espécies de esponjas

Tecidos da esponja *D. anchorata* coletada nos 13 locais foram analisadas por espectroscopia Raman *in situ*. Todos os espectros obtidos das amostras mostraram bandas em torno de 1500 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{C})$), 1157 cm^{-1} ($\delta(\text{C}-\text{C})$) e 1005 cm^{-1} ($\rho(\text{C}-\text{CH}_3)$) atribuídas a presença de carotenoides, bandas em torno de 1660 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{C})$), entre $1450-1460 \text{ cm}^{-1}$ ($\delta(\text{CH}_2/\text{CH}_3)$), $\sim 1300 \text{ cm}^{-1}$ ($\delta(\text{CH}_2)$), $\sim 1266 \text{ cm}^{-1}$ ($\delta(=\text{CH})$) e em 1086 cm^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{C})$), cm^{-1} atribuídas a ácidos graxos, e bandas em torno de 790 , 706 e 696 cm^{-1} , não assinaladas a nenhuma substância em particular. Apesar da semelhança no perfil espectral, foram observadas variações na composição química dos carotenoides, bem como alterações nas intensidades relativas das bandas entre as substâncias identificadas em cada amostra nos diferentes locais (Apêndice 3, Figura 13). A maioria

das amostras apresentou bandas em torno de 1520 cm^{-1} , e apenas as amostras da Ponta Fina apresentaram espectros com banda em 1516 cm^{-1} . As diferenças observadas na posição das bandas podem ser devido a variações no tamanho da cadeia poliênica, grau de funcionalização, interação com outras moléculas (ácidos graxos, proteínas) ou efeito da matriz biológica. As amostras provenientes da Ilha do Abraão e Vila Velha mostraram banda em torno de 1521 cm^{-1} e a da Ponta Fina em torno de 1516 cm^{-1} , confirmando a variação estrutural dos carotenoides entre as localidades. As amostras do Centro de Angra, Bonfim e TEBIG também apresentaram variações na composição carotenoídica devido à presença das bandas em torno de 1520 e 1510 cm^{-1} , entretanto, neste ambiente as variações ocorreram em todas as amostras analisadas. A distribuição dos ácidos graxos foi constante em todas as amostras, mas foi observado um aumento nas intensidades relativas das bandas dos ácidos em relação aos carotenoides, apenas na amostragem de Vila Velha. As bandas em 790 , 706 , 690 cm^{-1} foram registradas predominantemente nas amostragens dos ambientes com IRIA maior.

Figura 13- Espectros Raman *in situ* com linha de excitação em 1064 nm da esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 coletada nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande, RJ.

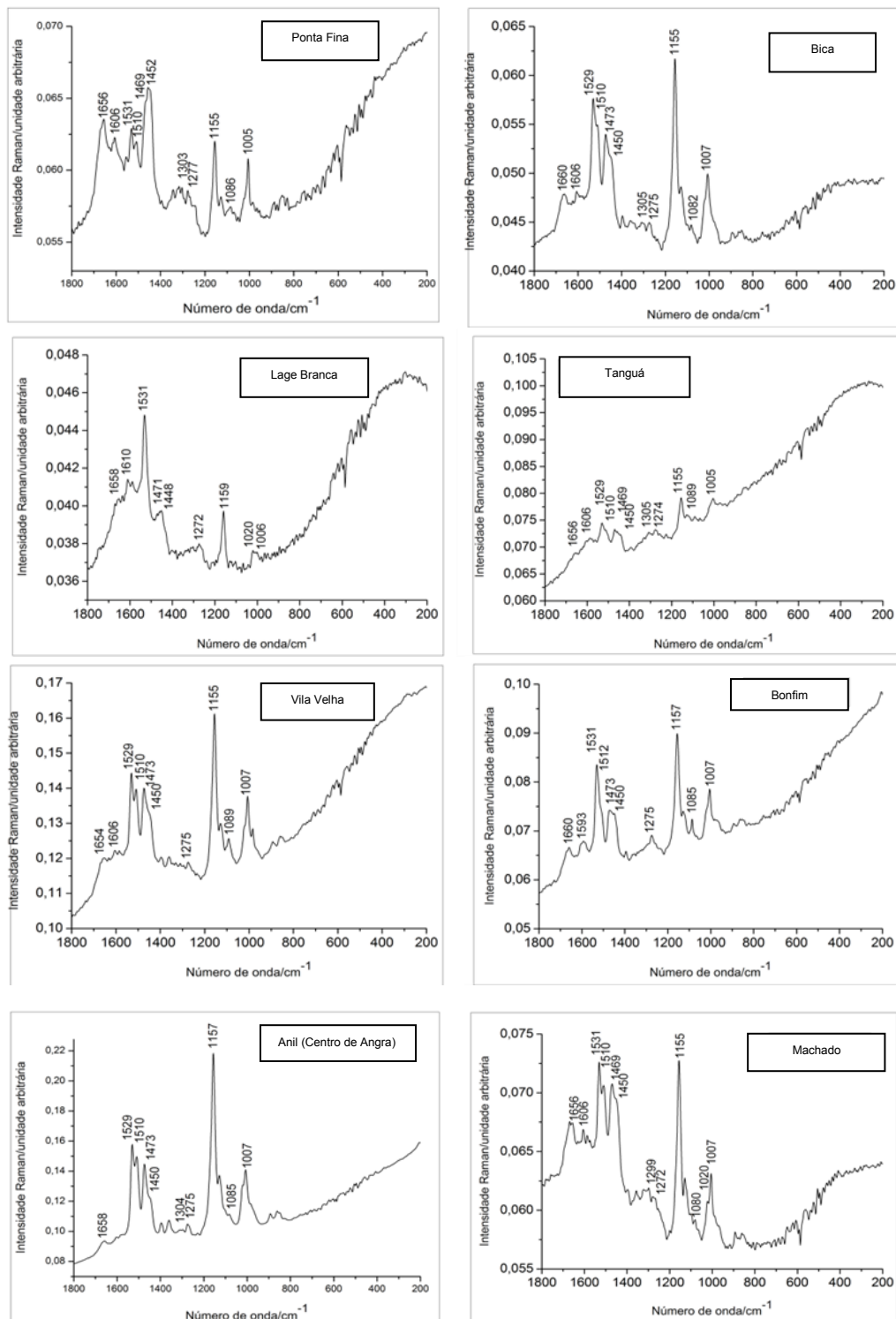


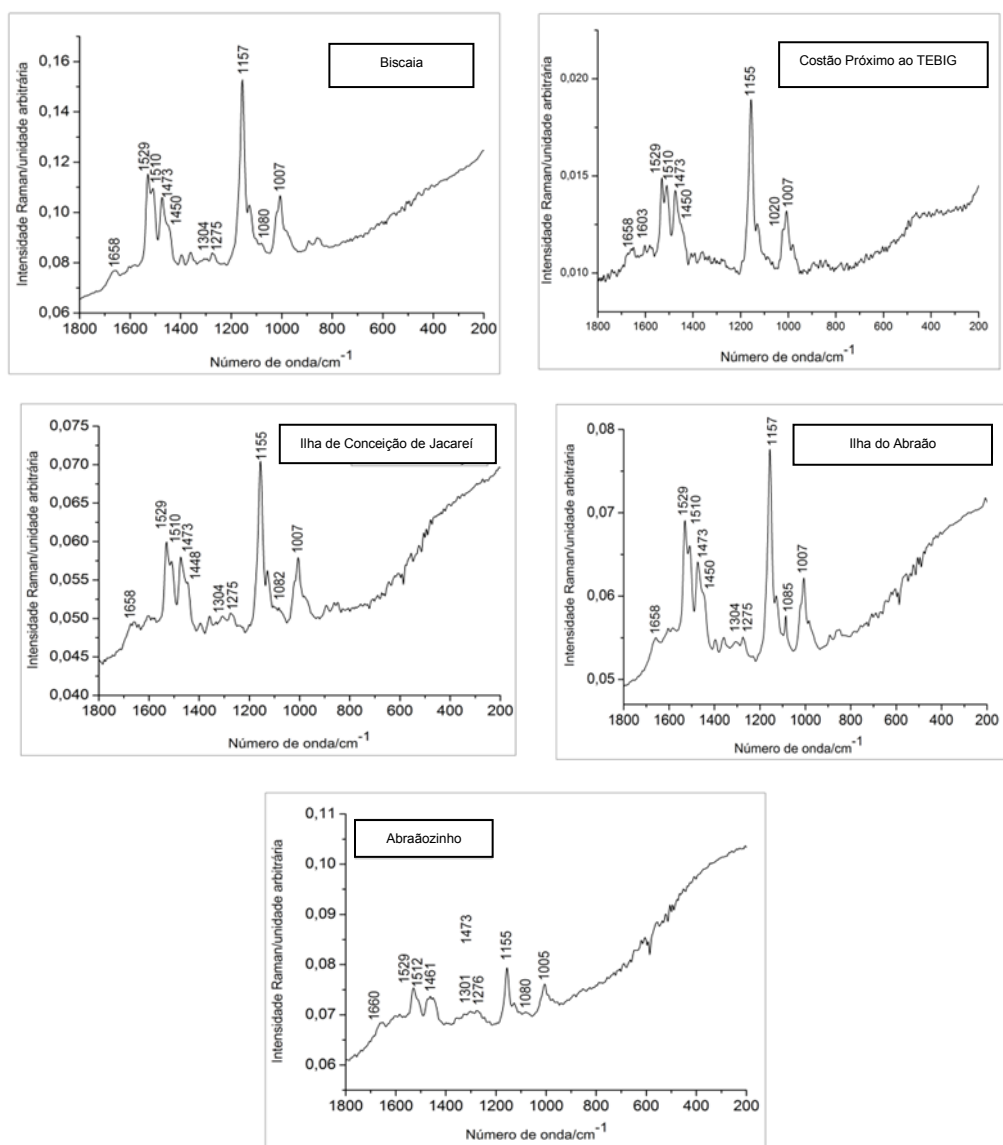


Fonte: A autora, 2018.

A análise espectral feita com tecido da esponja *M. angulosa* mostrou perfil muito semelhante em todos os locais (Apêndice 4, Figura 14). Todas as amostras apresentaram bandas em torno de 1500 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{C})$), 1157 cm^{-1} ($\delta(\text{C}-\text{C})$) e 1005 cm^{-1} ($\delta(\text{C}-\text{CH}_3)$) atribuídas aos carotenoides, e bandas em torno de 1660 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{C})$), entre $1450\text{-}1460 \text{ cm}^{-1}$ ($\delta(\text{CH}_2/\text{CH}_3)$), $\sim 1300 \text{ cm}^{-1}$ ($\delta(\text{CH}_2)$), $\sim 1266 \text{ cm}^{-1}$ ($\delta(=\text{CH})$) e em 1086 cm^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{C})$) atribuídas aos ácidos graxos. A presença das bandas em torno de 1530 e 1510 cm^{-1} poderia indicar perfil semelhante aos dos carotenoides observado em *D. anchorata*. Em todas as amostras as bandas correspondentes aos carotenoides apresentaram-se mais intensas do que as bandas dos ácidos graxos.

Figura 14- Espectros Raman *in situ* com linha de excitação em 1064 nm da esponja *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1964) coletada nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande, RJ.

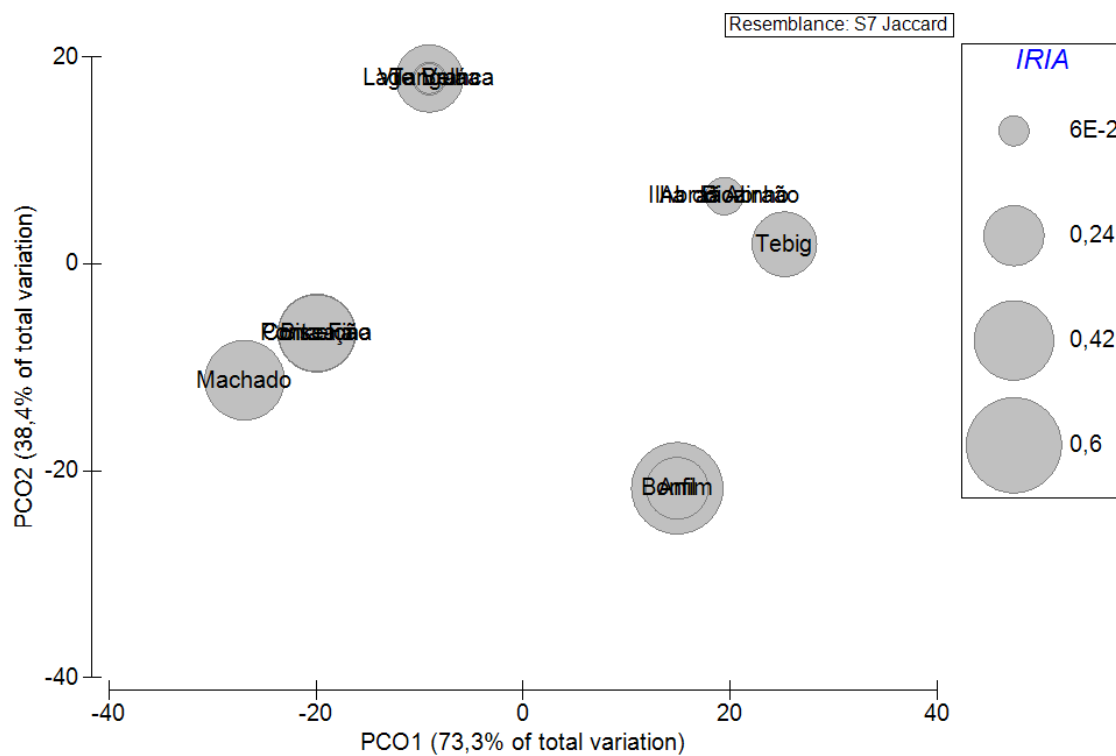




Fonte: A autora, 2018.

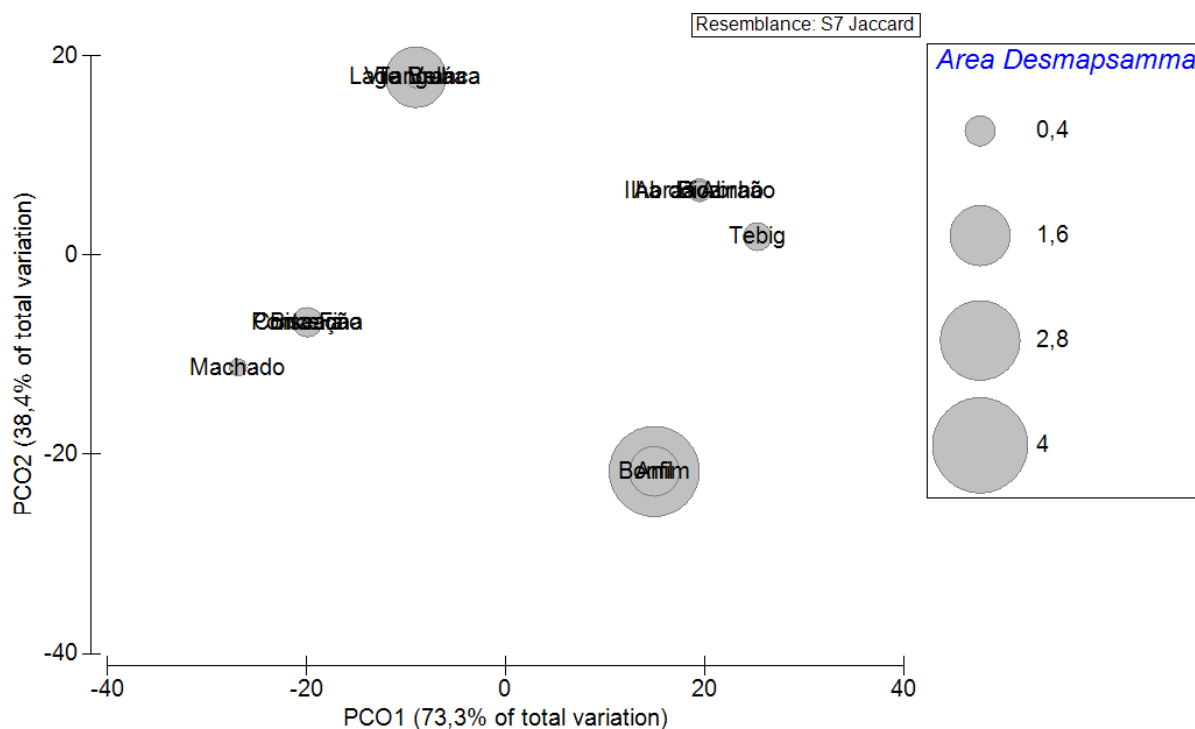
Houve diferenças nos perfis espectrais das amostras de *D. anchorata* nos diferentes níveis de impacto. Porém, mesmo com essas diferenças observadas, não houve relação entre o IRIA, o tamanho populacional e o perfil químico dessas esponjas (DistLM- IRIA Pseudo $F = 3,02$; $p = 0,08$; Área da população: Pseudo $F = 0,62$; $p = 0,64$) (Figura 15, Figura 16).

Figura 15 - Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico das esponjas *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 e os níveis de impacto.



Fonte: A autora, 2018.

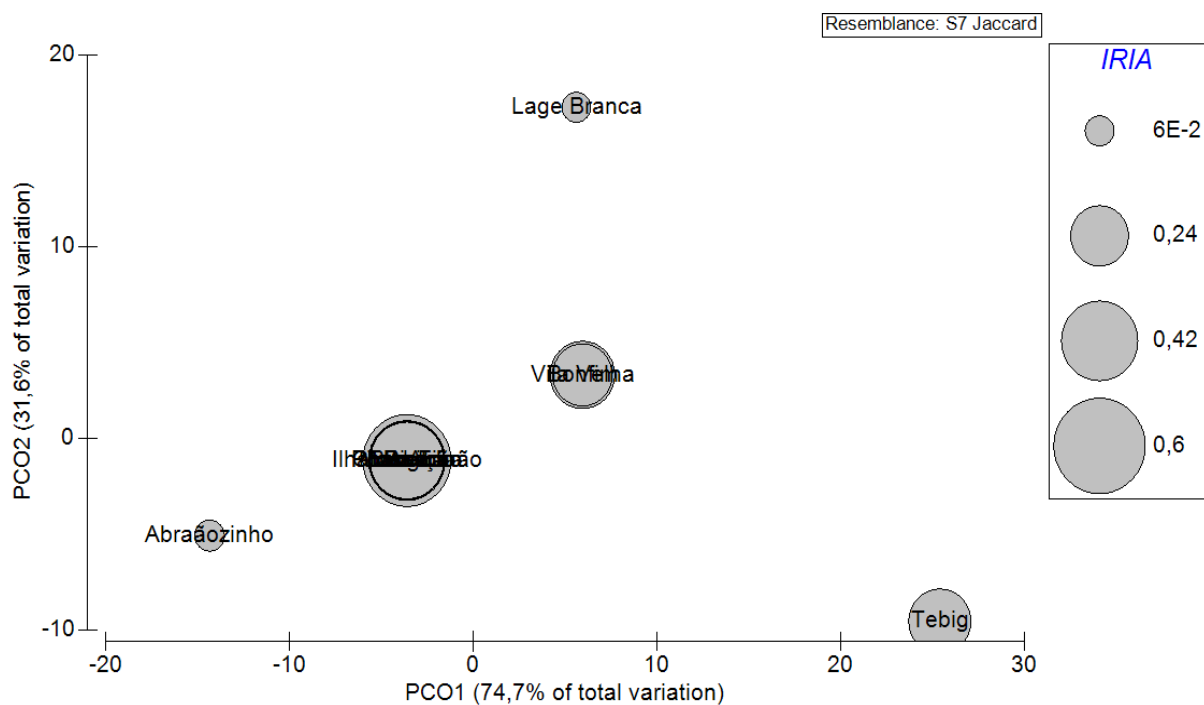
Figura 16 - Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico e a área de ocupação das esponjas *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882.



Fonte: A autora, 2018.

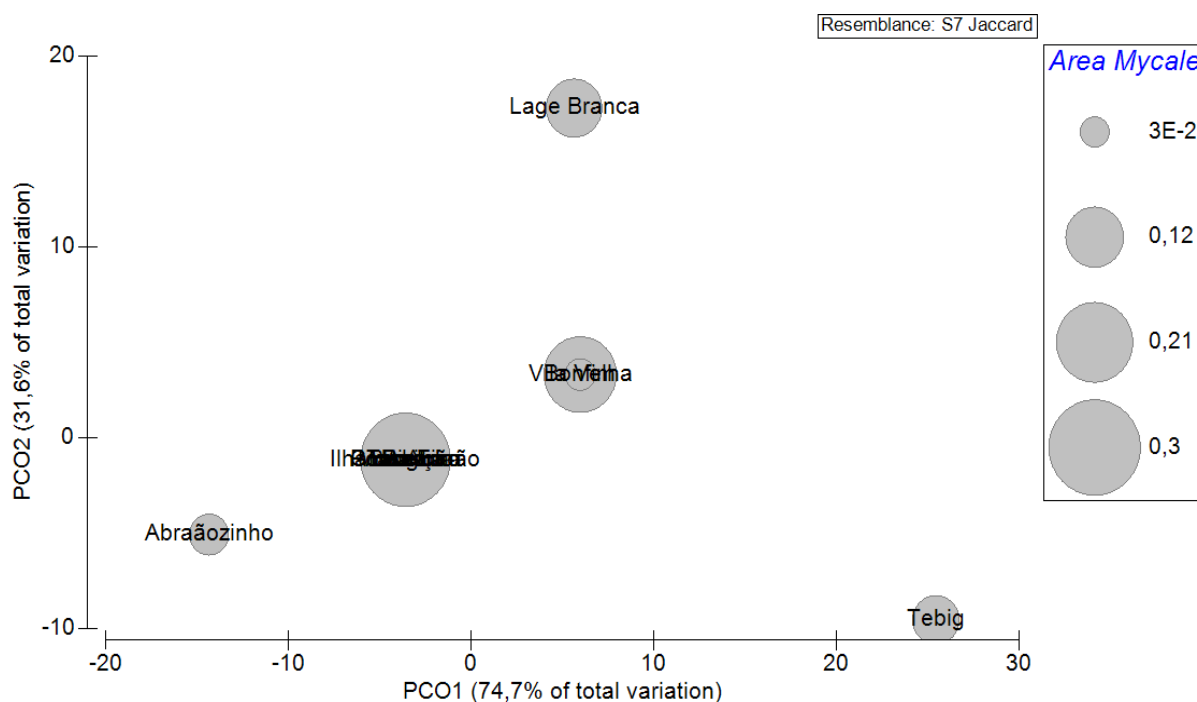
Os perfis espectrais das amostras de *M. angulosa* não se mostraram diferentes nos locais de estudo e também não foi observada relação entre o IRIA, o tamanho populacional e o perfil químico da esponja (DistLM- IRIA Pseudo F= 0,17; p = 0,85; Área da população: Pseudo F= 0,17; p = 0,77) (Figura 17, Figura 18).

Figura 17 - Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico das esponjas *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864) e os níveis de impacto.



Fonte: A autora, 2018.

Figura 18 - Gráfico da análise das coordenadas principais para os treze locais de estudo na Baía de Ilha Grande, em relação ao perfil químico e a área de ocupação das esponjas *Mycale angulosa* (Duchassaing e Michelotti, 1864).



Fonte: A autora, 2018.

2.6 DISCUSSÃO

Os maiores valores de IRIA foram encontrados próximos aos centros urbanos de Angra dos Reis, a Marina Verolme e Conceição de Jacaré. O desenvolvimento urbano foi o fator que mais influenciou o impacto nesses locais. Já é conhecido que atividades humanas próximas a ambientes costeiros contribuem para o declínio da qualidade da água (WOLANSKI et al. 2004). O crescimento populacional e seu desenvolvimento associado são a principal causa das mudanças ambientais que estamos observando no Brasil (SANTOS e CÂMARA 2002). Segundo Creed e Oliveira (2007) a região da

BIG se mostra propícia a urbanização, atividades industriais e de turismo, o que pode alterar a dinâmica da área causando alterações no ambiente marinho.

Mesmo não tendo valores alarmantes como os padrões mostrados na resolução do CONAMA 357, 2005, a análise dos nutrientes foi a que mostrou maior relação significativa com o IRIA. Classicamente, os distúrbios ambientais são medidos através da quantidade de nutrientes presentes na água (CONAMA 357,2005). Nitrogênio e fósforo são os nutrientes que mais frequentemente são limitantes nos ecossistemas marinhos. Em outros estudos altos níveis de nitrogênio e fósforo já foram associados a urbanização (COSTA et al. 2008; BURFORD et al. 2012), fator também visto aqui como o mais influente no índice. O aumento de nutrientes vem sendo observado nas últimas décadas, devido a intensificação de atividades humanas e urbanização ao longo das regiões costeiras (SIMONASSI et al. 2010). A quantidade de nitrogênio, por exemplo, segundo a NRC 2000 (National Research Council), mais que duplicou nos ambientes costeiros de 1960 a 1990. Isso levou a eutrofização e deterioração da qualidade da água em muitas zonas costeiras do mundo (NIXON 1995).

Estudos pretéritos já demonstraram que os organismos bentônicos também podem ser indicadores úteis do estado ambiental, pois respondem de forma previsível a vários distúrbios naturais e antrópicos (MUNIZ et al. 2005). No nosso estudo não foi observado relação entre o IRIA e a comunidade bentônica. As comunidades mostraram um agrupamento que pode estar mais relacionados a proximidade entre os locais, ou outros fatores não analisados. O zoantídeo *Palythoa caribaeorum* e as algas formadoras de tapetes foram os organismos mais representativos, como observado em estudos pretéritos para a região (LAGES et al. 2011; MANTELATTO et al. 2013). A ampla cobertura desses organismos pode estar relacionada às suas características biológicas. O zoantídeo *P. caribaeorum* possui uma ampla plasticidade de suas colônias, tolerância fisiológica, crescimento rápido, além de ser um eficiente competidor (SUCHANEK e GREEN 1981; MENDONÇA-NETO e da GAMA 2009; SILVA et al. 2015). Em comparação com outras macroalgas, as algas formadoras de tapete possuem um crescimento rápido, são eficazes em ocupar espaços recém disponíveis, ainda são tolerantes a estresses físicos e ambientais, e boas competidoras (LITTLER et al. 2006; BAROTT et al. 2009; VERMEIJ et al. 2010).

Nos ecossistemas aquáticos, os peixes, assim como os organismos bentônicos, são considerados bons indicadores de saúde dos ambientes devido à sua

posição relativamente alta na cadeia alimentar (ADAMS et al. 1993). Porém, as assembleias de peixes monitoradas não demonstraram relação com o IRIA. A maioria dos peixes observados são comuns para a costa da Baía de Ilha Grande (FERREIRA et al. 2007). Os peixes observados como sendo os mais abundantes *Haemulon steindachneri* e *Haemulon album*, também são um dos principais componentes das assembleias da costa brasileira (FERREIRA et al. 2004).

As esponjas não apresentaram uma área de ocupação muito representativa nos locais de estudo na Baía de Ilha Grande (máxima de 3.59 cm²/m²). Então, por que monitoramos as esponjas? Conhecendo a importância das esponjas no ambiente marinho, nos motivou a realizar estudos sobre esses organismos. Além disso, medidas de área podem ser comparadas com outros estudos, sendo uma medida de abundância efetiva e fácil (WULFF 2001), e ser também eficiente para monitorar esponjas agressivas, como é o caso da esponja *D. anchorata* (AERTS e van SOEST 1997; WULFF 2001; SILVA et al. 2017)

Analise feita por espectroscopia Raman *in situ* sobre a composição química da esponja *D. anchorata* nos diferentes locais revelou que houve diferenças sutis entre os metabólitos detectados entre os ambientes que possuíam IRIA mais altos e mais baixos. Esses resultados poderiam indicar que esta esponja pode ser sensível aos efeitos dos impactos ambientais. Por outro lado, as análises obtidas com a espécie *M. angulosa* não mostraram diferenças quanto aos metabólitos detectados nos ambientes estudados. De uma maneira geral, esse conjunto de dados indicou que a Espectroscopia Raman pode ser utilizada como ferramenta analítica em estudos com amostras *in situ* de esponjas marinhas, na avaliação da composição química de determinadas classes metabólicas como carotenoides e ácidos graxos. A vantagem desta técnica em comparação com outras é que permite analisar pequenas quantidades de amostras biológicas *in situ* e *in vivo* (MAIA et al. 2014).

Já foi observado que os metabólitos secundários de esponjas podem se alterar de acordo com os estresses ambientais. Em outro estudo, também realizado na Baía de Ilha Grande, foi possível observar que o distúrbio causado pelo impacto do enriquecimento de nutrientes parece provocar diferença na capacidade de síntese dos metabólitos no porífera *D. anchorata* (PETRONILHO et al. 2004). Distúrbios como a mudança da temperatura da água do mar também são relatados influenciando na produção de metabólito secundário de grande importância farmacológica, presente na esponja *Haliclona* sp. (BOYD et al. 2001). O composto salicilalamida A, produzido

por *Haliclona* sp. reduziu sua concentração com o aumento de 0,5°C na temperatura da água para cada grau de latitude, ao longo da costa sudoeste da Austrália (ABDO et al. 2007).

As análises de DistLM não demonstraram nenhuma relação entre a área de ocupação das esponjas e a produção de metabólitos secundários. Contudo, essa relação entre produção de metabólitos e crescimento em esponjas é apoiada por algumas evidências indiretas em outros estudos (LEONG e PAWLIK 2010). *Desmapsamma anchorata*, por exemplo, foi observada como a esponja de maior abundância em um naufrágio adjacente a um recife de coral Caribenho onde não haviam seus predadores e por consequência ela não precisaria se proteger quimicamente. Porém, ela não é comumente encontrada nos recifes porque é um alimento preferido de peixe-papagaio, que não estavam presentes no naufrágio, provavelmente por causa da presença de grandes tubarões predadores e meros (LEONG e PAWLIK 2010). Pawlik e colaboradores (2008) concluíram que as espécies de esponjas sem defesa apresentavam crescimento mais rápido, consistente com um *trade-off* entre defesa química e crescimento ou reprodução.

Sendo assim, os distúrbios medidos pelo IRIA não causaram uma resposta direta das comunidades estudadas. Ou essas podem estar sendo resistentes e/ou resilientes aos distúrbios. A falta de resposta das populações pode, no entanto, ser devido a grandes e complexas respostas fisiológicas por cada indivíduo (UNDERWOOD 1989). Portanto estudos futuros podem ser realizados a fim de observar diferentes distúrbios não medidos pelo IRIA e as diversas respostas dos organismos.

2.7 CONCLUSÃO

- Os maiores valores de IRIA encontrados foram próximos a Angra dos Reis, a Marina Verolme e Conceição de Jacareí, e o desenvolvimento urbano foi o fator que mais contribuiu para o distúrbio desses locais.
- A quantidade de nutrientes em cada local foi o fator que apresentou relação significativa com o IRIA.
- As comunidades bentônicas e a assembleia de peixes não apresentaram relação significativa com o IRIA.
- Os locais Bonfim e Tanguá foram os que apresentaram maior área de ocupação de *D. anchorata*, enquanto que Ilha de Conceição de Jacareí, Vila Velha e Tanguá apresentaram maior ocupação de *M. angulosa*.
- A espectroscopia Raman *in situ* sobre a composição química da esponja *D. anchorata* nos diferentes locais revelou que houve diferenças entre os metabólitos detectados entre os ambientes que possuíam IRIA mais altos e mais baixos, porém o mesmo não foi observado para a composição de metabólitos de *M. angulosa*. Essa técnica mostrou ser eficiente na avaliação de efeitos causados por distúrbios ambientais para a esponja *D. anchorata*.
- Não foi observado uma relação entre crescimento e o IRIA com a produção de metabólitos para ambas as espécies de esponja *D. anchorata* e *M. angulosa*.

3 ANÁLISE EXPERIMENTAL DE DISTÚRBIOS AMBIENTAIS SOBRE O CRESCIMENTO DA ESPONJA MARINHA *DESMAPSSAMMA ANCHORATA*

3.1 Introdução

O crescimento das esponjas geralmente é considerado indeterminado, pois o tamanho individual varia dependendo das condições ambientais (SEBENS 1987). No entanto, a competição por recursos espaciais ou tróficos podem limitar o crescimento, e o crescimento exponencial raramente é observado em populações naturais (SEBENS 1987). Dados sobre a dinâmica de crescimento das esponjas são básicos em questões ecológicas e de conservação, como capacidade para colonizar novos substratos, para competir com os vizinhos por espaço, e para persistir no ambiente uma vez instalado (WULFF 2005; de CARALT et al. 2008).

Os fatores abióticos são considerados importantes seletores que favorecem determinadas espécies de esponjas a prosperar nos ambientes recifais (WULFF 2012). Os níveis elevados de nutrientes foram destacados como causa de declínio dos recifes de corais, com alguns estudos relatando um aumento na gravidade das doenças dos corais (BRUNO et al. 2003). Todos os distúrbios importantes que causam declínio nos recifes brasileiros estão relacionados às atividades humanas. As principais fontes de nitrogênio e fósforo para os ecossistemas aquáticos vem de atividades agrícolas e urbanas (COSTA Jr et al. 2002). Um número crescente de estudos tem documentado variações na estrutura da comunidade de esponjas correlacionando-as com parâmetros de qualidade da água (GOCHFELD et al. 2007). Em alguns casos, a biomassa da esponja pode aumentar com a proximidade ao escoamento, porém em outros, parece que o aumento da quantidade de estresse (por exemplo, aumento das concentrações de poluentes orgânicos) resulta em uma menor diversidade de esponjas, deixando apenas espécies mais resistentes (MURICY et al. 1991; VILANOVA et al. 2004).

A predação é um determinante fator biótico que regula a estrutura das populações de esponjas, através da distribuição e padrões de abundância (LOH e PAWLIK 2012a). A predação de esponjas por peixes, por exemplo, pode resultar em

um dano da camada externa da esponja, criando uma ferida que pode se infectar com microrganismos patógenos (SARA e VACELET 1973; SMITH e HILDEMANN 1986). As mordidas de peixe também podem alterar o fluxo de água através da esponja. Os predadores podem ter controle direto na abundância dos níveis tróficos ou causar efeitos indiretos através de cascatas tróficas (CONNELL 2001; JACKSON 2001). Contudo as teias alimentares vêm sendo alteradas devido a pesca excessiva que leva a diminuição de diversas espécies de predadores, sendo assim, organismos que anteriormente eram abundantes são, agora, considerados raros (LOTZE et al. 2011; COLL et al. 2012).

Sabe-se, que de uma maneira geral, as comunidades são controladas por uma série de complexas interações entre os fatores biológicos e físicos, como as forças descendentes, pressão de predação (*top-down*) e ascendentes, disponibilidade de nutrientes (*bottom-up*) (SMITH et al. 2001), que são responsáveis por manter os padrões de biodiversidade nesses ambientes. Alterações desses fatores podem conduzir a mudanças substanciais na função e na estrutura das comunidades bentônicas. Muitos trabalhos experimentais controlados vêm sendo realizados em regiões recifais com esses fatores, e seus efeitos podem ser tanto diretos, indiretos ou interativos (LESSER 2006; KORPINEN et al. 2007; PAWLIK et al. 2013; LOH et al. 2015).

Outro fator, como a redução na disponibilidade de luz no meio, pode limitar o crescimento e sobrevivência de diversos organismos (MALDONADO e YOUNG 1996). A luz pode ser muito importante na determinação da distribuição espacial de esponjas (WARBURTON 1966; FELL 1974), que pode causar mudanças na estrutura das assembleias sobre os recifes de corais (WILKINSON e TROTT 1985). A falta de luz ou o sombreamento podem estar associados a impactos antrópicos, como pelo despejo de esgoto (SCANES e PHILIP 1995), que é capaz de afetar diversas respostas fisiológicas nas esponjas, como o crescimento e o estado reprodutivo (ROBERTS et al. 2006). Outros resultados mostraram que, em alguns casos, pode aumentar a produção de compostos bioativos (BECERRO et al. 1995; FERRETTI et al. 2009) e causar efeitos no assentamento e no recrutamento de larvas (MALDONADO e YOUNG 1996).

Existem carências crescentes da detecção confiável de distúrbios ambientais decorrentes de atividades humanas. Há ainda necessidade de pesquisas ecológicas com foco nos efeitos dos problemas antropogênicos, que influenciam sistemas

naturais em escalas espaciais e temporais de relevância para os organismos e habitats afetados (UNDERWOOD 1994). Testes experimentais de hipóteses constituem um valioso avanço da compreensão da ecologia. Ainda segundo Underwood (1994), esses testes devem ser usados mais amplamente para compreensão de problemas ambientais.

O presente estudo pretende avaliar os efeitos das perturbações causadas pelas forças *top-down* e *bottom-up*, e o sombreamento sobre esponja a *Desmapsamma anchorata*. Esses dados poderão auxiliar na detecção dos possíveis impactos ambientais, antes mesmo deles se tornarem inaceitáveis, além de explicar e prever as respostas das populações de esponjas aos distúrbios.

3.2 Objetivo geral

Avaliar experimentalmente, *in situ*, as respostas da esponja marinha *Desmapsamma anchorata* a diferentes distúrbios ambientais, através da taxa de crescimento.

3.2.1 Objetivos específicos

1. Avaliar os efeitos separados e interativos do enriquecimento de nutrientes e da exclusão de macropredadores (*top-down* e *bottom-up*) sobre o crescimento da esponja *Desmapsamma anchorata*.
2. Avaliar o efeito do sombreamento sobre o crescimento da esponja *Desmapsamma anchorata*.

3.3 Hipóteses

1. As taxas de crescimento de *Desmapsamma anchorata* são maiores quando submetidas aos tratamentos de exclusão de predação e aumento de nutrientes, tanto com o efeito interativo das duas forças, como no efeito separado.
2. As taxas de crescimento de *Desmapsamma anchorata* são menores nas condições de sombreamento.

3.4 Material e Métodos

3.4.1. Experimento de top-down x bottom-up e sombreamento

O desenho experimental consistiu na utilização de 54 blocos de concreto como substrato artificial (20x40cm), espalhados aleatoriamente ao longo do costão rochoso, na região de infralitoral, em torno de 5 metros de profundidade, na Ilha dos Macacos (23°04.595'S; 44°14.043'W), local considerado pouco impactado no Canal Central da Baía de Ilha Grande. Os blocos estavam dispostos a uma distância mínima de aproximadamente 3 metros um do outro, de forma aleatória entre os tratamentos. Em cada bloco foi colocada uma placa de cerâmica (20x20 cm). As placas foram perfuradas nas laterais para a colocação de lacres numerados para a sua identificação. Os indivíduos de *D. anchorata* coletados ao longo do costão, do mesmo local do experimento, foram transplantados e amarrados às placas com fios elásticos. Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente entre os blocos.

Ao longo de aproximadamente quatro meses (dezembro de 2016 a março de 2017) nos tempos T0= implantação, T1=33 dias, T2= 54 dias e T3=131 dias, o crescimento das esponjas foi monitorado em campo por fotografia subaquática, através do uso de uma câmera digital Canon Power Shot G11, e através do um método visual, pela obtenção de medidas de altura dos indivíduos, com a utilização

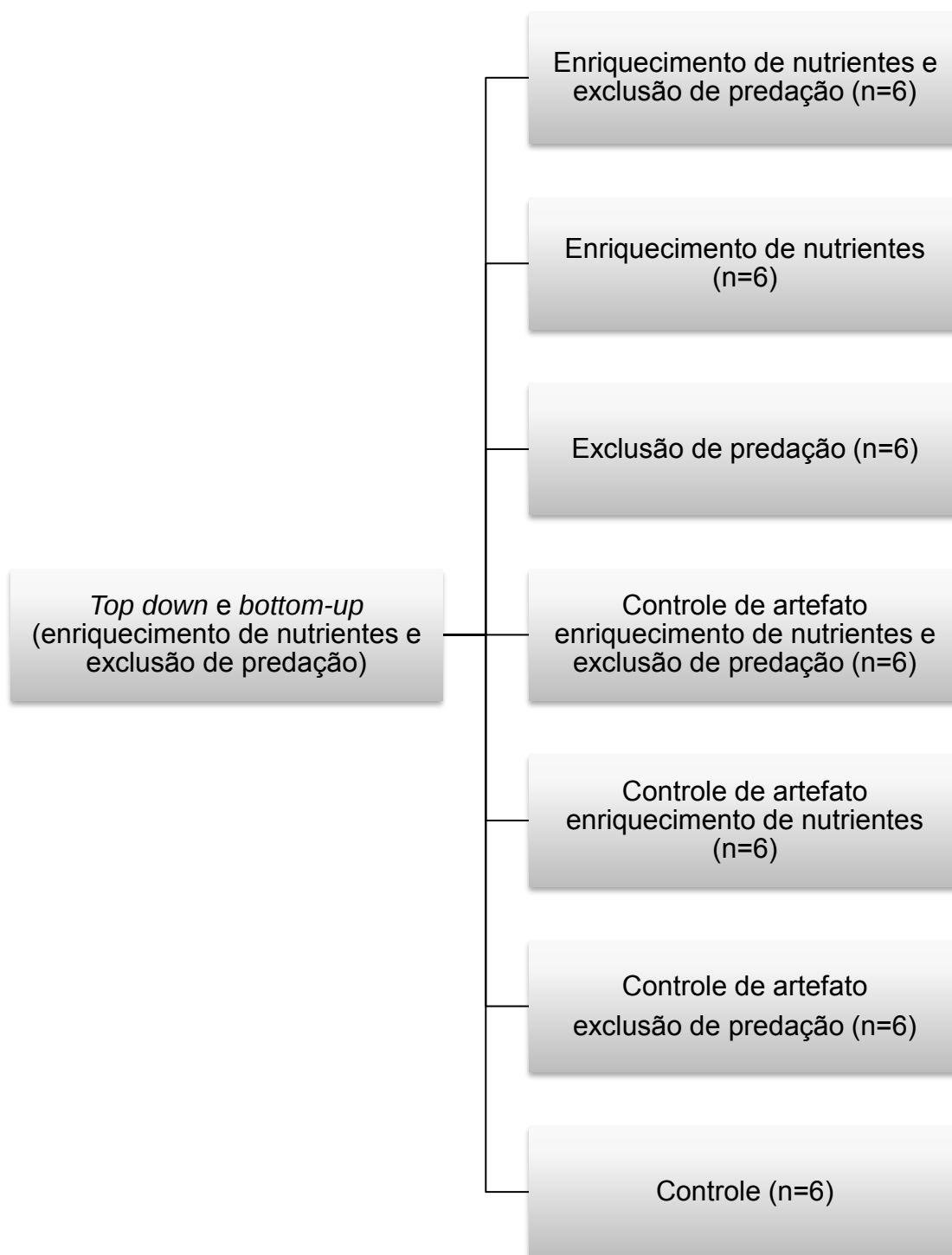
de um paquímetro (maior, média e menor altura). O tempo de experimento foi baseado em estudos pretéritos na mesma região com a mesma espécie (SILVA 2014; FERREIRA 2016).

Os experimentos manipulativos foram divididos em dois grupos: 1) Efeitos das forças *top-down* e *bottom-up* (exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes, respectivamente), e 2) Efeito do Sombreamento - adaptado de (SMITH et al. 2001; ROBERTS et al. 2006).

Para o tratamento de enriquecimento de nutrientes foram presos nas laterais dos blocos de concreto, dois sacos, com 300 g cada, do fertilizante de liberação lenta Osmocote® (Sierra Chemical Company; N:P:K= 15:9:12). Os mesmos foram confeccionados usando telas plásticas de dois milímetros entrenós. Os sacos foram trocados a cada 20 dias, para garantir a mesma descarga de nutrientes na água, no entorno dos blocos. Antes de serem presos aos blocos, os sacos eram mantidos em água salgada durante três dias, para garantir a liberação imediata quando colocado em campo (JARA et al. 2006; SANTOS 2013). O Osmocote® é um grânulo recoberto por uma resina orgânica biodegradável (2-4 mm), que controla diariamente a liberação dos nutrientes no meio e vem sendo citado por diversos autores na literatura como eficaz no enriquecimento de ambientes aquáticos (Worm et al. 2000; Littler et al. 2006; Petronilho 2008; Burkepile e Hay 2009). Além disso ele foi previamente testado como eficiente em experimento realizado na mesma região por Petronilho, 2008 e Santos, 2013.

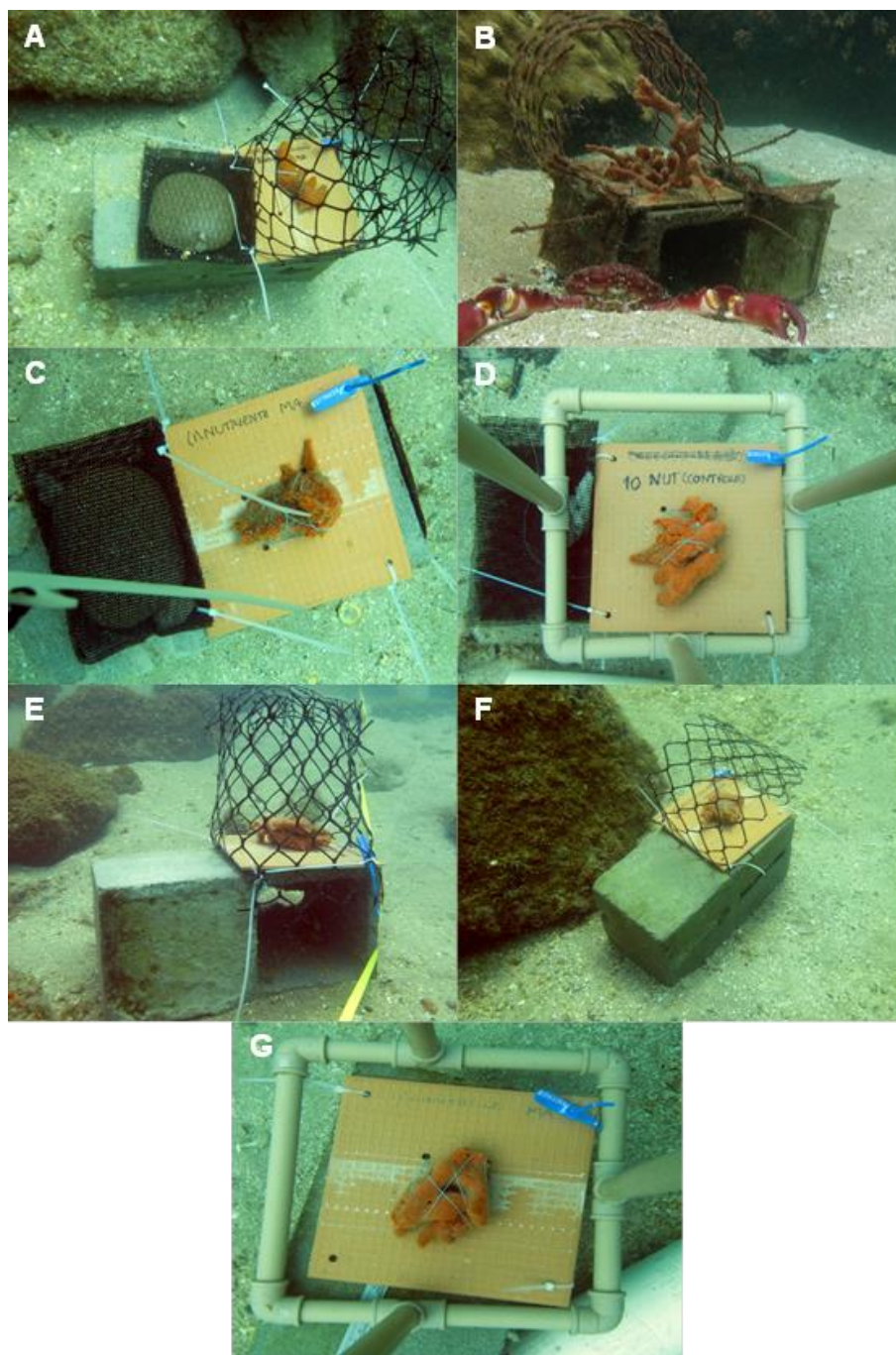
Nos tratamentos com exclusão de predação foram implantadas gaiolas plásticas (20 x 20 cm; 2 cm entrenós) sobre as esponjas para evitar a ação de macropredadores, como peixes, ouriços e estrelas-do-mar (modificado de SANTOS 2013) (Figura 19, Figura 20). A análise do fluxo de água nas gaiolas não foi considerada neste trabalho, uma vez que estudos prévios de Santos (2013) mostraram que não houve modificação do fluxo no interior das gaiolas, através do método ClodCard (DOTY 1971).

Figura 19- Esquema do desenho amostral do bioensaio *Top-down* x *bottom-up* sobre a esponja *Desmapsamma anchorata* na Baía de Ilha Grande.



Fonte: A autora, 2018.

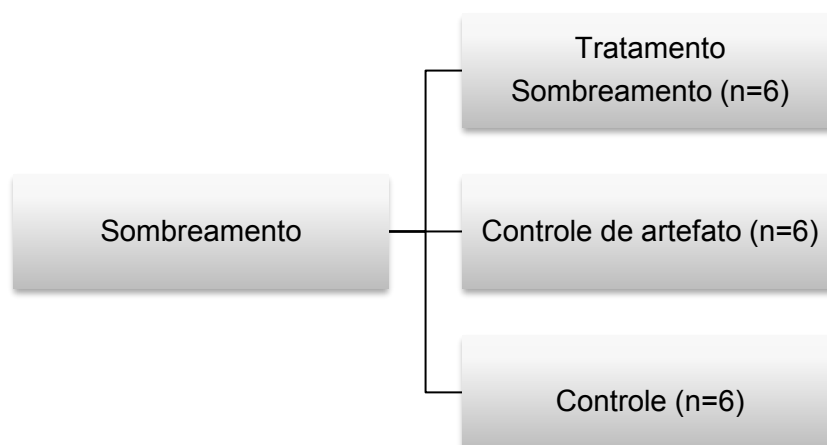
Figura 20- Réplicas do bioensaio de *Top-down x bottom-up* sobre a esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 na Baía de Ilha Grande.



Legenda: A- Tratamento *Top-down x bottom-up*; B- Tratamento Controle de Artefato *Top-down x bottom-up*; C- Tratamento Enriquecimento de Nutriente; D- Tratamento Controle de Artefato Enriquecimento de Nutriente; E- Tratamento Exclusão de Predação; F- Tratamento Controle de Artefato Exclusão de Predação; G- Controle. Fotos: Amanda Silva. Fonte: A autora, 2018.

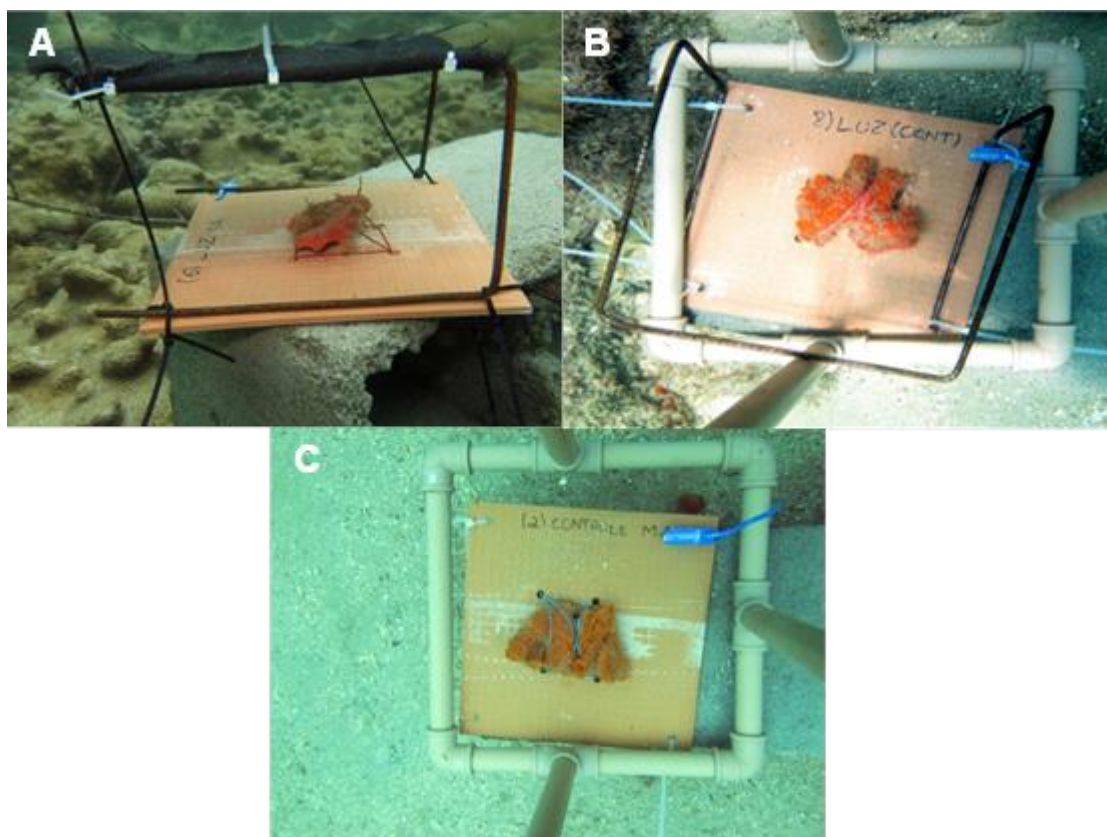
Nos tratamentos de sombreamento foram utilizadas telas de Sombrite dobradas, que são telas plásticas de proteção e sombreamento, com 80% de sombra (Figura 21, Figura 22). A incidência de luz foi medida aleatoriamente nos blocos com o auxílio de sensores para que se tenha certeza de que todas as esponjas estarão recebendo a mesma incidência de luz. As medições foram realizadas em quatro réplicas de cada tratamento utilizando sensores de luz modelo HOBO UA-002-08 Pendant Temp/Light produzido pela Onset Computer Corporation, Bourne, Massachusetts, USA. Todos os tratamentos possuíam controle de artefato, e controle.

Figura 21- Esquema do desenho amostral do bioensaio de Sombreamento sobre a esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 na Baía de Ilha Grande.



Fonte: A autora, 2018.

Figura 22- Réplicas do bioensaio de Sombreamento sobre a esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 na Baía de Ilha Grande.

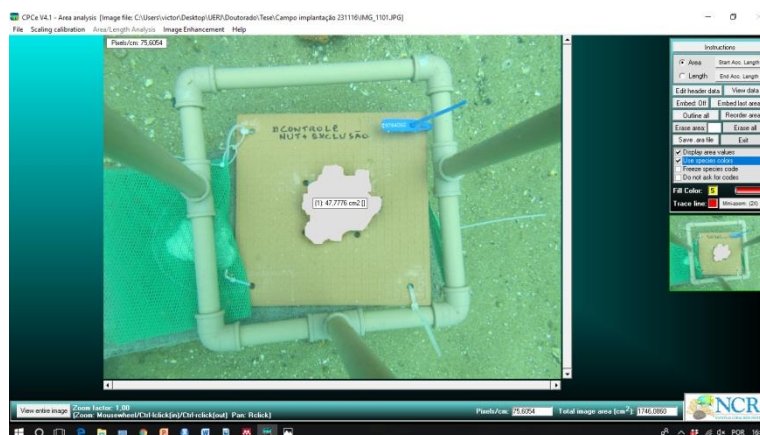


Legenda: A- Tratamento Sombreamento; B- Tratamento Controle de Artefato; C- Tratamento Controle.
Fotos: Amanda Silva e Gisele LôboHajdu
Fonte: A autora, 2018.

3.4.2 Análise das taxas de crescimento

Para quantificar o volume das esponjas, inicialmente obteve-se a área do organismo com o auxílio do software Coral Point Count com extensão Excel (CPCe 4.0), a partir das imagens fotográficas capturadas em campo (Figura 23).

Figura 23- Exemplo de cálculo de área de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 no software Coral Point.



Fonte: A autora, 2018.

Em seguida o valor obtido da área foi multiplicado pelo valor da altura do organismo obtido em campo, obtendo-se o volume aproximado. A partir do volume (cm^3) foi calculado a taxa de crescimento de cada indivíduo. A taxa de crescimento das esponjas foi determinada usando a seguinte equação (KOOPMANS e WIJFFELS 2008):

$$Tx = \frac{\ln\left(\frac{V_t}{V_{t-1}}\right)}{Dt}$$

Onde Tx é a taxa de crescimento no tempo t, V_t é o volume no tempo t, V_{t-1} é o volume no tempo t-1, edt é o número de dias entre as medições de volume entre o tempo t-1 e t.

Para determinar o efeito dos artefatos, inicialmente foram realizados testes estatísticos entre os tratamentos controle e controles de artefatos. Não foram observadas diferenças significativas entre esses tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8- Resultados da ANOVA medidas repetidas entre os tratamentos controle e controle de artefato. N=6

Tratamentos (controle de artefato)	F	p
Sombreamento	0.11	0.89
Nutriente	0.03	0.85
Exclusão	0.88	0.35
Nutriente X Exclusão	0.01	0.91

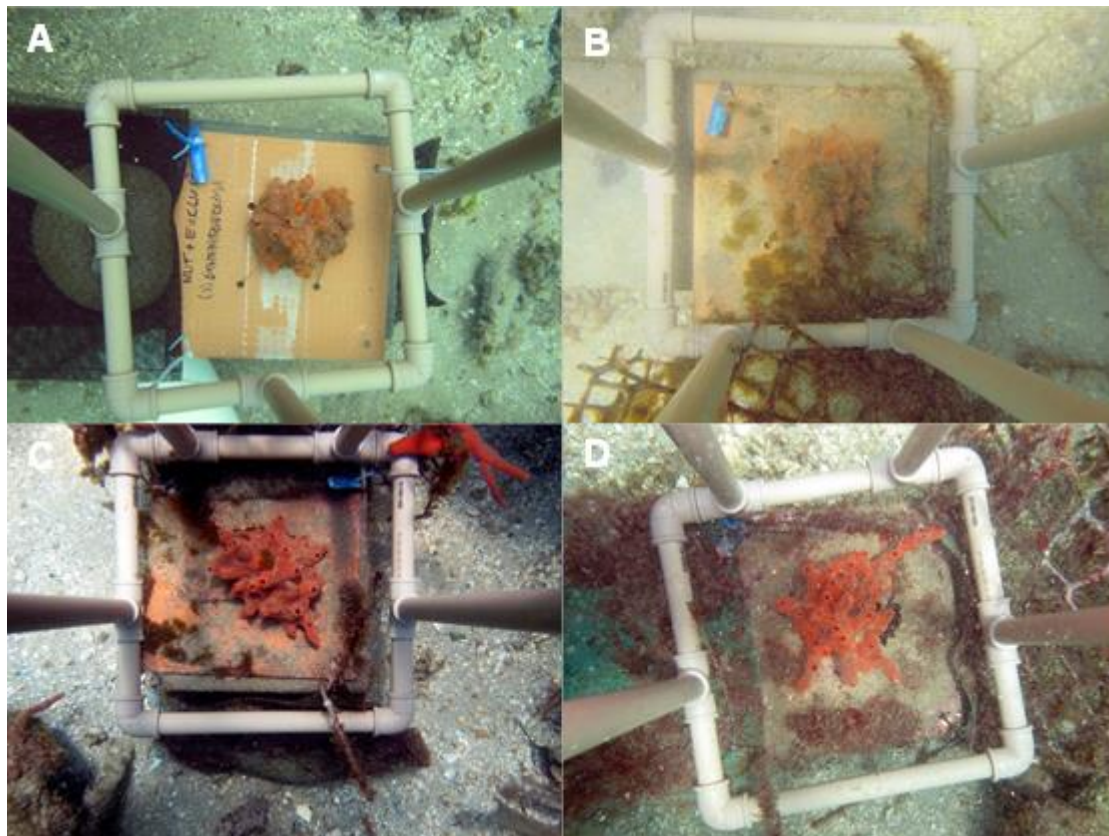
Fonte: A autora, 2018.

Uma análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas foi realizado no programa de estatística R (TEAM 2013) para todos os dados.

3.5 Resultados

Durante os 132 dias de duração do experimento, as esponjas aumentaram de volume em todos os tratamentos (Figura 24). O maior volume foi observado no tratamento de exclusão de predação ($610.9 \pm 127.9 \text{ cm}^3$), enquanto que o tratamento de enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação apresentou os menores volumes ($399.5 \pm 75.05 \text{ cm}^3$). (Figura 25).

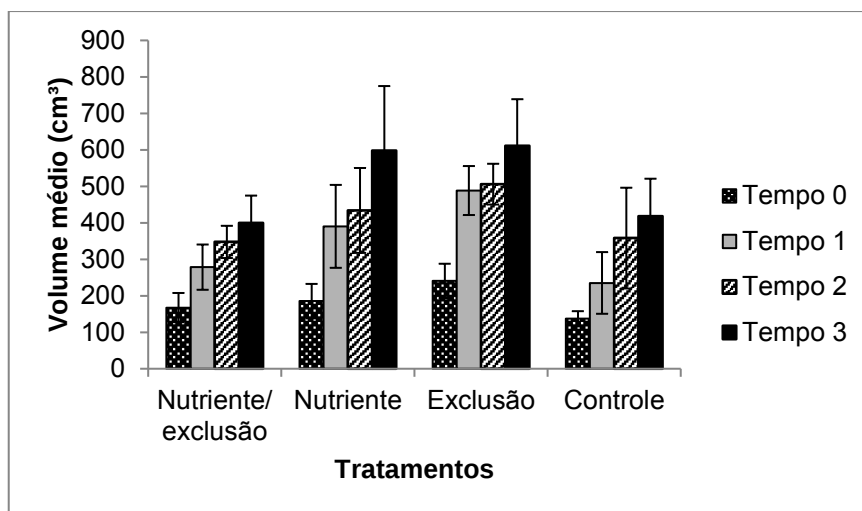
Figura 24– Exemplo de Crescimento de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 durante o experimento de *top-down* (exclusão de predação) x *bottom-up* (enriquecimento de nutrientes).



Legenda: A – implantação; B - 33 dias; C - 54 dias; D- 131 dias.

Fonte: A autora, 2018.

Figura 25 - Crescimento em volume médio de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 durante o experimento de *top-down* (exclusão de predação) x *bottom-up* (enriquecimento de nutrientes) (+ erro padrão).

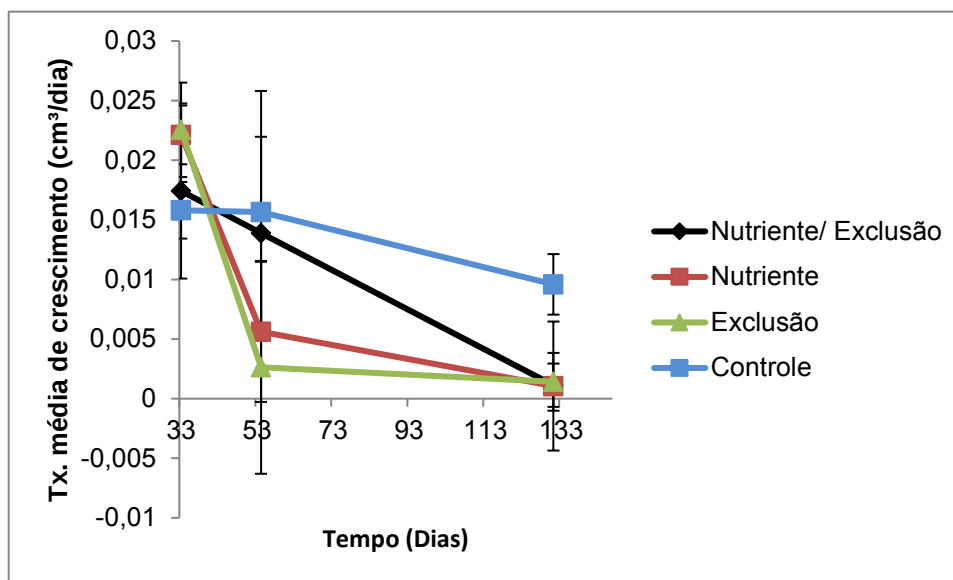


Legenda: T0= implantação, T1=33 dias, T2= 54 dias e T3=131 dias

Fonte: A autora, 2018.

As taxas de crescimento diminuíram em sua maior parte ao longo o tempo, exceto o tratamento controle que manteve taxas quase estáveis entre os tempos 1 e 2 ($0,01 (\pm 0,002)$; $0,009 (\pm 0,006)$ cm^3/dia , respectivamente) (Figura 26). O tratamento que apresentou maior taxa de crescimento foi o tratamento com enriquecimento de nutrientes ($0,022 (\pm 0,002)$ cm^3/dia no tempo 1), enquanto que o tratamento com a menor taxa foi controle no tempo 3 ($- 0,0009$ cm^3/dia). Contudo não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, mas sim com relação ao tempo (Tabela 9).

Figura 26 - Taxa média de crescimento de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 durante o experimento de *top-down* (exclusão de predação) x *bottom-up* (enriquecimento de nutrientes) ($\pm$ erro padrão).



Legenda: T0= implantação, T1=33 dias, T2= 54 dias e T3=131 dias

Fonte: A autora, 2018.

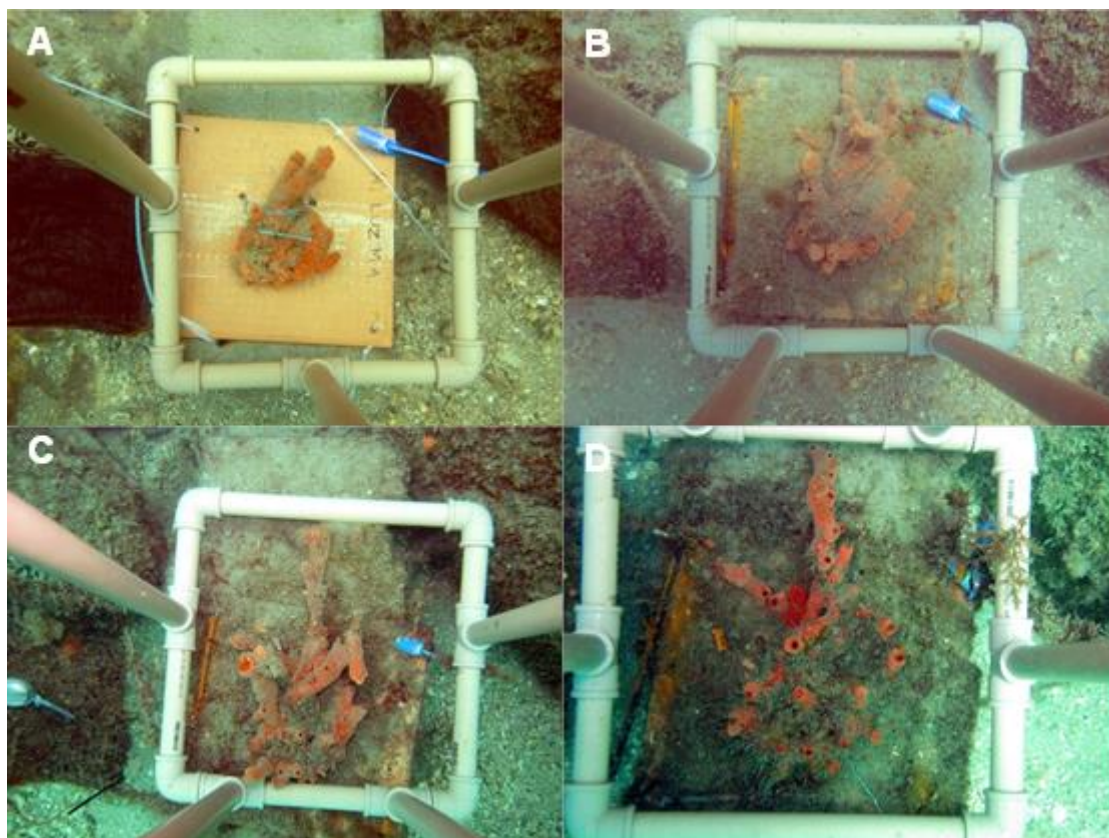
Tabela 9– Resultados da ANOVA medidas repetidas entre os tratamentos do experimento de *top-down* (exclusão de predação) x *bottom-up* (aumento de nutrientes).

Tratamentos	F	P
Tempo	$F_{53} = 8.67$	$p < 0.01$
Nutriente	$F_{17} = 0.05$	$p = 0.83$
Exclusão	$F_{17} < 0.01$	$p = 0.96$
Nutriente: Exclusão	$F_{17} = 0.26$	$p = 0.62$

Fonte: A autora, 2018.

Com relação ao Experimento de Sombreamento o volume das esponjas no último tempo diminuiu nos tratamentos com sombreamento ($340.5 \pm 102.9 \text{ cm}^3$) (Figura 27), enquanto que no tratamento controle as esponjas aumentaram seu volume (maior volume $418.1 \pm 136.7 \text{ cm}^3$) (Figura 28).

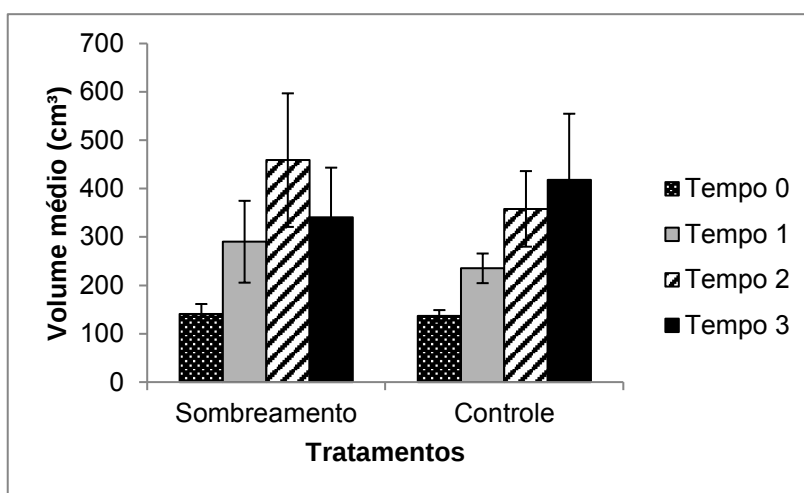
Figura 27– Exemplo de crescimento de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 durante o experimento de *top-down* (exclusão de predação) x *bottom-up* (enriquecimento de nutrientes).



Fotos: Amanda Silva.

Fonte: A autora, 2018.

Figura 28- Crescimento em volume médio de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 durante o experimento de sombreamento (+ erro padrão).

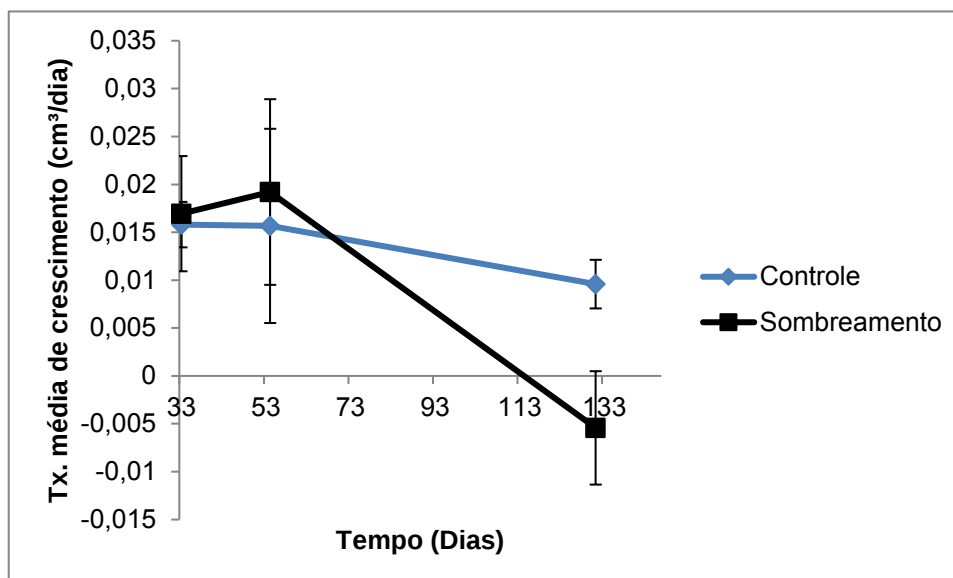


Legenda: T0= implantação, T1=33 dias, T2= 54 dias e T3=131 dias.

Fonte: A autora, 2018.

Também não foi possível observar diferenças significativas entre o tratamento sombreamento e tratamento controle (Anova medidas repetidas $F_{17}=0.112$; $p=0.95$). Porém, foi possível observar diferenças nas taxas de crescimento durante o tempo do experimento (Anova medidas repetidas $F_{53}=7.546$; $p=0.002$). A taxa de crescimento no tempo 1 no tratamento de sombreamento foi a mais alta observada durante o ensaio ($0,016 (\pm 0,006) \text{ cm}^3/\text{dia}$) (Figura 29).

Figura 29- Taxa média de crescimento de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 durante o Experimento de Sombreamento (+ erro padrão).



Legenda: T0= implantação, T1=33 dias, T2= 54 dias e T3=131 dias

Fonte: A autora, 2018.

3.6 Discussão

O presente estudo é um dos primeiros na análise dos possíveis efeitos da exclusão de predadores e do aumento de nutrientes em esponjas marinhas no Atlântico Sul. Tanto as forças *top-down*, como as forças *bottom-up* podem influenciar a dinâmica e a estrutura das comunidades, pois estão diretamente ligadas a cadeia alimentar (nutrição e predação), uma das teorias centrais da ecologia (MENGE 2000; PAWLIK et al. 2013). Porém, não observamos efeitos desses fatores nem a interação deles e nem individualmente, em nosso estudo sobre a esponja *D. anchorata*.

A esponja *Cymbastela concentrica* e suas algas simbióticas também não apresentaram resposta ao aumento de nutrientes, nitrogênio e fósforo, em experimento *in situ* realizado no recife South Wales, Australia. Por outro lado, o enriquecimento de nutrientes tem sido frequentemente correlacionado com o aumento

na abundância de esponjas (WULFF 2012). Os nutrientes da coluna de água podem ser rapidamente transformados em picoplâncton útil para as esponjas (REISWIG 1971), e algumas esponjas são capazes de remover diretamente nutrientes orgânicos dissolvidos em conjunto com simbiontes (por exemplo, REISWIG, 1971). Dois estudos anteriores realizados no Caribe concluíram que os processos *bottom-up* foram de maior importância para o crescimento e para a abundância das esponjas (LESSER 2006; TRUSSELL et al. 2006), porém, esses estudos foram apenas de transplante de organismos para diferentes áreas, e não levaram em consideração o aumento manipulativo de nutrientes.

A pressão de predação também não influenciou as taxas de crescimento de *D. anchorata* no presente estudo. Contudo a influência dos predadores na abundância das esponjas ainda é muito controversa. Segundo Pawlik e colaboradores (2008) a predação é o fator predominante que estrutura a comunidade de esponjas sobre recifes de corais caribenhos. A remoção de predadores de esponja pela sobrepesca pode modificar a estrutura das comunidades, e beneficiar espécies de crescimento rápido e indefensas, que competem melhor pelo espaço com corais ameaçados (PAWLIK et al. 2013). Por outro lado, em cima do mesmo argumento da sobrepesca, Lesser e Slaterry (2013) demonstraram a falta de evidência do controle das esponjas pela predação em seus experimentos. McLean (2006) também indicou que a predação obteve baixa importância na dinâmica da população de *D. anchorata*. Embora alguns peixes (bodiões e peixes papagaios) tenham se alimentado de *D. anchorata* seus efeitos foram insignificantes (MCLEAN 2006). Contudo é importante notar que o controle não é um processo único, mas pode estar relacionado com as taxas de crescimento, abundância, recrutamento, dinâmica de população e limites de habitat de cada esponja.

Houve uma tendência na diminuição da taxa de crescimento de *D. anchorata* no tratamento de sombreamento, porém não foi significativo. Também não observamos efeito do sombreamento sobre o crescimento dos indivíduos. Os níveis de luminosidade podem estar associados a turbidez da coluna d'água e despejo de esgoto doméstico que pode aumentar as partículas em suspensão (SCANES e PHILIP 1995), com potencial para reduzir a quantidade de luz que atinge o substrato (ROBERTS et al. 2006). A esponja *Lamellodysidea chlorea*, por exemplo, teve diminuição de sua biomassa e da porcentagem de cobertura em áreas mais sombreadas (THACKER 2005). O sombreamento também afetou o crescimento e o

estado reprodutivo de *Cymbastela concentrica* (ROBERTS et al. 2006). O sombreamento também foi capaz de atenuar o crescimento de *Terpios hoshinota*, uma esponja invasora que está causando declínios significativos na cobertura de corais em recifes tropicais (THINESH et al. 2017).

Contudo uma variação temporal significativa foi observada nas taxas de crescimento da esponja *D. anchorata*. Sebens (1987) relatou que o crescimento nas esponjas é sobretudo indeterminado, e aumentaram exponencialmente em tamanho com o tempo. Em geral, no entanto, o crescimento é muitas vezes limitado por diversos fatores (por exemplo, competição por espaço ou alimento) que restringe o crescimento dos organismos, e o crescimento exponencial é raramente alcançada em condições naturais (SEBENS 1987). Além disso, a maioria das esponjas possui forma assimétrica e determinadas espécies, de acordo com as condições ambientais são capazes de obter distintos fenótipos, o que chamamos de plasticidade fenotípica (PRICE et al. 2003).

McLean (2006) sugeriu que os padrões de distribuição e crescimento de *Desmapsamma* nos habitats de águas rasas do Caribe podem ser amplamente previstos a partir do movimento da água e disponibilidade de substratos adequados para fixação. Por exemplo, a abundância de *D. anchorata* deve ser maior em áreas costeiras protegidas do que em áreas expostas. Alternativamente, a alta densidade de *D. anchorata* deve ocorrer em áreas com espaço no substrato mais disponível quando os níveis de movimentação da água são semelhantes.

A variação temporal mostrou efeitos significativos sobre as taxas de crescimento de *D. anchorata*, contudo nenhum dos outros fatores testados apresentaram efeito sobre as esponjas. Observamos uma redução nas taxas de crescimento ao longo do tempo, o que pode sugerir um efeito do sombreamento sobre o crescimento da esponja. Nosso conhecimento sobre esponjas beneficiará futuras pesquisas neste campo. Embora os experimentos relatados aqui tenham mostrado mecanismos de uma única esponja, seria interessante replicar esses estudos com outras espécies, a fim de encontrar um biomonitor ideal para os parâmetros testados ou aumento o tempo de estudo da esponja já testada.

3.7 Conclusão

- Foi observada uma variação temporal nas taxas de *Desmapsamma anchorata*.
- Não foram observados efeitos interativos ou separados dos fatores *top-down* x *bottom-up*, nas taxas de crescimento de *Desmapsamma anchorata*.
- Também não foi observado efeito do sombreamento nas taxas de crescimento de *D. anchorata*.
- Assim, podemos concluir que o crescimento da esponja *Desmapsamma anchorata* não é controlado pelas forças *top-down*, *bottom-up* e nem pelo sombreamento.

4 EFEITO DOS DISTÚRBIOS AMBIENTAIS SOBRE PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA ESPONJA MARINHA *DESMAPSSAMMA ANCHORATA*

4.1 Introdução

A ecologia química marinha é uma ciência que fornece conhecimento sobre a ecologia e evolução das populações, a organização das comunidades e a função dos ecossistemas marinhos (HAY 2009). Os metabólitos secundários têm importantes funções ecológicas, atuando como mediadores na interação entre os organismos e seu meio (HAY e FENICAL 1996; HAY 2009; IVANISEVIC et al. 2011). O uso de pistas químicas é comum em invertebrados bentônicos, especialmente filtradores sésseis que estão sujeitos a altas pressões ambientais, como predação, bioincrustação e competição por recursos (URIZ et al. 1996; KRUG 2006; LAGES et al. 2006; HAY 2009).

Nos últimos anos, com o desenvolvimento de novas tecnologias analíticas e de instrumentos houve um aumento significativo na descoberta de novas moléculas (Li et al. 2015). A produção de metabólitos secundários varia muito de acordo com o organismo (BECERRO et al., 1995, BLUNT et al 2017). As causas e consequências dessa variação estão recebendo muita atenção dos pesquisadores, devido às importantes implicações biológicas, ecológicas e evolutivas (HAY e FENICAL 1996; PAUL e PUGLISI 2004; PAWLIK 2011; LAGES et al. 2015). Os organismos marinhos podem modificar seus níveis de metabólitos secundários de acordo com o nível de predação (CHANAS et al. 1997; LAGES et al. 2006; ROHDE et al. 2015). No entanto, outros fatores também são capazes de influenciar essa variação e precisam ser estudados.

Os fatores ambientais desempenham um papel importante na determinação dos níveis de compostos químicos secundários. Por este motivo, a avaliação da produção de metabólitos secundários também consiste em uma importante ferramenta de monitoramento das forças *top-down* e *bottom-up* (SANTOS 2013). O aumento de nutrientes (*bottom-up*) e a sobrepesca de predadores (*top-down*) são

considerados os principais controladores antropogênicos ligados ao funcionamento dos ecossistemas recifais (STUHLREIER 2012).

A luz pode ser outro fator que regula os níveis de metabólitos secundários em organismos marinhos. Alguns compostos são utilizados para fornecer proteção contra a radiação UV em vários filos (STOCHAJ et al. 1994; KARENTZ 2001), e seus níveis podem ser modificados de acordo com a quantidade de radiação UV encontrada no ambiente (KARENTZ 2001).

As esponjas são uma das principais responsáveis pela produção de metabólitos secundários no ambiente marinho, e os mais estudados quimicamente (CRONIN 2001; LEAL et al. 2012; MEHBUB et al. 2014). Na década de 1950 descobriu-se que as esponjas produzem uma ampla gama de metabólitos secundários biologicamente ativos (BERGMANN e FEENEY 1950). Desde então, mais de 5300 compostos químicos foram descritos em esponjas (SINKO et al. 2012; MEHBUB et al. 2014). Vários desses metabólitos secundários são estruturalmente complexos, e muitas vezes altamente concentrados nos tecidos das esponjas (PAWLIK et al. 1995).

Compreender as causas da variação dos metabólitos secundários pode fornecer informações valiosas, não apenas sobre os fatores que afetam a produção desses compostos, mas sobre as circunstâncias em que os organismos investem em produção de metabólitos secundários (KARBAN e BALDWIN 1997). Sendo assim, o presente estudo pretende observar se os fatores *top-down* x *bottom-up* e o sombreamento são uma das causas que controlam a produção de metabólitos secundários na esponja *Desmapsamma anchorata*.

4.2 Objetivo geral

Avaliar as respostas da esponja marinha *Desmapsamma anchorata* a diferentes distúrbios ambientais, através da produção de metabólitos secundários.

4.2.1 Objetivos específicos

1. Avaliar os efeitos separados e interativos da exclusão macropredadores e do enriquecimento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*) sobre a produção total de metabólitos secundários e por substâncias da esponja *Desmapsamma anchorata* na Baía de Ilha Grande.
2. Avaliar o efeito do sombreamento na produção total de metabólitos secundários e por substâncias da esponja *Desmapsamma anchorata* na Baía de Ilha Grande.

4.3 Hipóteses

1. A produção de metabólitos secundários pelas esponjas *D. anchorata* é menor, quando elas forem submetidas aos experimentos de exclusão de predação.
2. A produção de metabólitos secundários pelas esponjas *D. anchorata* é maior, quando elas forem submetidas aos experimentos de enriquecimento de nutrientes.
3. A interação dos diferentes fatores (exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes) aumenta a produção de metabólitos secundários das esponjas *D. anchorata*.
4. A produção de metabólitos secundários pelas esponja *D. anchorata* é reduzida sobre sombreamento.

4.4 Material e Métodos

4.4.1. Preparo de amostra

Antes do início e ao final dos experimentos de *top-down* x *bottom-up* (exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes) e de sombreamento, já descrito no capítulo 3, uma amostra de cada indivíduo submetido aos experimentos foi coletada, e imediatamente resfriadas.

Em laboratório, as amostras foram secas em estufa e trituradas com auxílio de um bastão de vidro. O pó de esponja foi separado com auxílio de peneira, para o uso do tamanho de partícula 32-60 tyler/mesh. Os extratos originados de diferentes tamanhos de partículas foram previamente testados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG/DIC) para observar qual o tamanho ideal para a análise. Cento e vinte mg de pó de esponja foram então pesados, e 2 ml da mistura dos solventes orgânicos diclorometano e metanol (DCM:MeOH (1:1)) foi adicionado a cada amostra. Em seguida, as amostras foram colocadas em um ultra-som de imersão, durante 15 min, em temperatura ambiente (25 °C). Os extratos resultantes foram filtrados através de uma membrana de celulose regenerada (Minisart RC15, Sigma-Aldrich, Brasil) com malha de 0,45 µm, e avolumados em balão volumétrico de 2ml.

4.4.2 Análise do perfil químico das esponjas

Os extratos brutos (DCM:MeOH) filtrados foram analisados utilizando um cromatógrafo de gás (Agilent model 6890n) acoplado a um espectrômetro de massa de alta resolução (modelo 5973n) (CG/EM) com um injetor automatizado (modelo 7683), e uma coluna DB-35 (30 m, 0,250 mm de diâmetro interno, 0,250 µm espessura do filme). O Hélio foi usado como gás de arraste, com uma taxa de fluxo de 1,5 mL.min⁻¹, e as amostras foram injetadas em *splitless* (sem divisão de fluxo). A programação

do forno foi: Temperatura inicial de 130 °C por min, taxa de aquecimento de 11,04 °C min⁻¹ até 320 °C com isoterma final de 27 min. Foram realizadas três repetições de injeção dos extratos brutos (DCM:MeOH) para cada amostra. Os extratos brutos das esponjas de diferentes tratamentos foram injetados no CG/EM por lote de 13 amostras cada vez, incluindo sempre mais um extrato bruto considerado “amostra controle”, com o intuito de obter o controle das injeções. Esta “amostra controle” não foi submetida a nenhum tratamento experimental de campo. Os espectros de massas obtidos foram comparados com os contidos nas bibliotecas NIST e Wiley 275, visando sua identificação.

4.4.3 Análise dos dados

Os cromatogramas foram analisados utilizando o software da Agilent, MSD Chemstation versão E. 02. 02. 1431. Todos os picos que representaram até 10% da área do pico majoritário de cada amostra foram selecionados para serem identificados pelas bibliotecas e amostradas suas abundâncias. Cada amostra controle injetada com um lote de amostras foi auto integrada, posteriormente todo lote era integrado com o método de integração da amostra controle. A integração foi feita com fragmentos diferentes para cada pico. Para posterior padronização das áreas foi realizado o seguinte cálculo:

$$\text{Área final da amostra} = \frac{A_F \times []_{AC}}{A_{AC} \times []_A}$$

onde:

A_F = área do fragmento da amostra

$[]_{AC}$ = Concentração da amostra controle

A_{AC} = área do fragmento do pico majoritário da amostra controle

$[]_A$ = Concentração da amostra

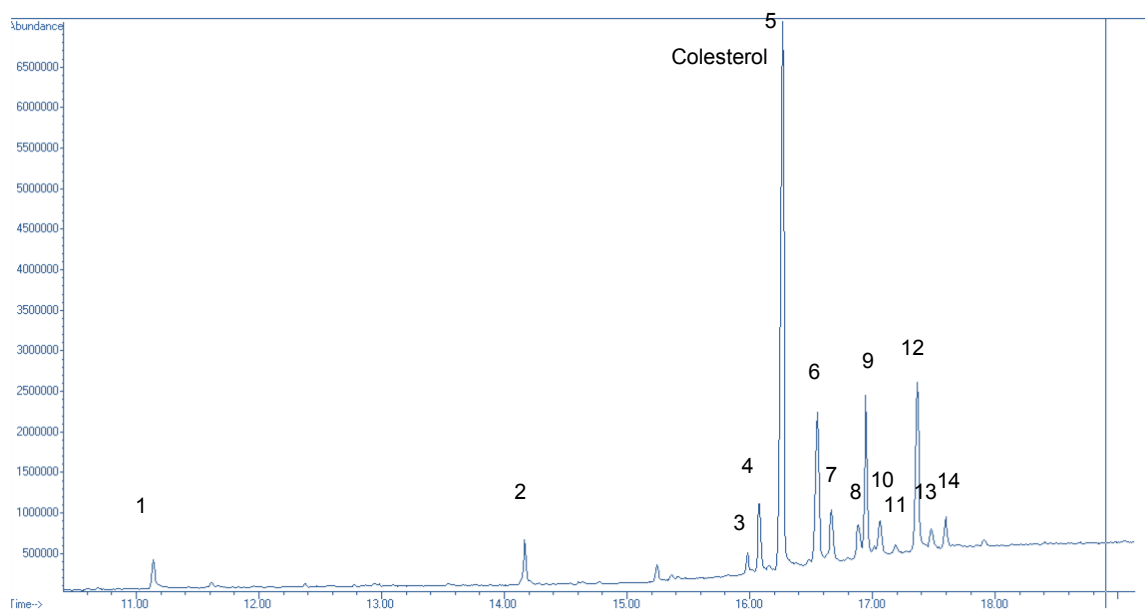
A partir dos resultados das áreas dos fragmentos de massas foi realizada uma análise global de agrupamento com todas as amostras de todos os tratamentos para cada experimento (*top-down* x *bottom-up* e sombreamento), e posteriormente, um

teste T pareado para cada substância de cada tratamento, entre os tempos inicial e final de ambos os experimentos *top-down* x *bottom-up* e Sombreamento no programa JMP 13.2.1 Statistical Discovery From SAS. Todo o preparo de amostras e análise dos dados foram realizados com auxílio do Prof. Dr. Marcelo Tappin, no Núcleo de Cromatografia I, Serviço de Métodos Analíticos de Farmanguinhos, Fiocruz.

4.5 Resultados

Todas as amostras dos bioensaios (*top-down*, *bottom-up* e sombreamento) foram analisadas por CG/EM, e revelaram a presença de 14 principais substâncias (Figura 30). Dos picos identificados, um pertencia a classe de ácidos graxos e os outros 12, a classe dos esteróis (Tabela 10). O mesmo produto principal, cholesta-5-en-3 β -ol, ou colesterol, foi encontrado como majoritário em todas as amostras, e teve um tempo de retenção de 16.27 min, nas condições descritas na metodologia.

Figura 30 - Exemplo de espectro “amostra controle” utilizada como controle da injeção das amostras de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882.

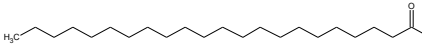
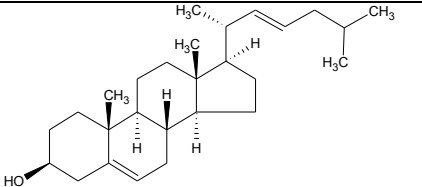
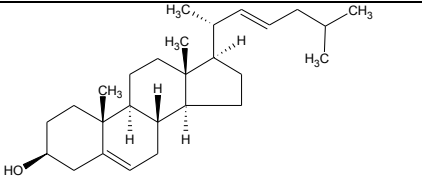
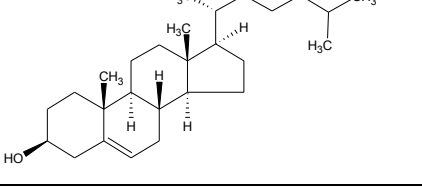
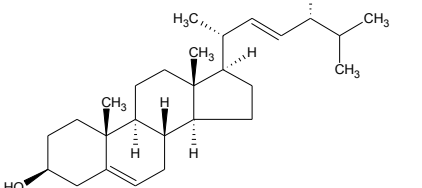
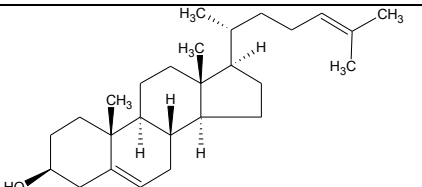


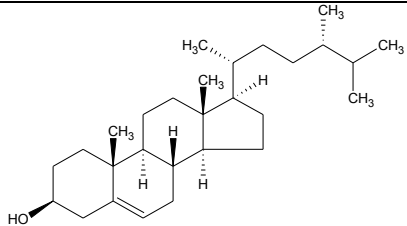
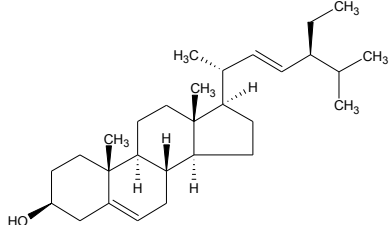
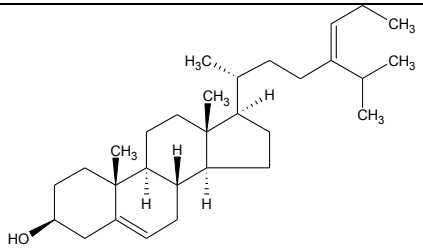
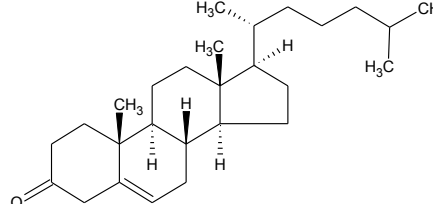
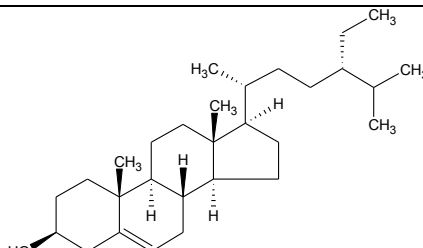
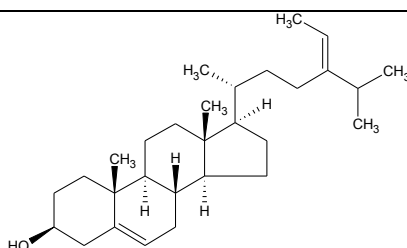
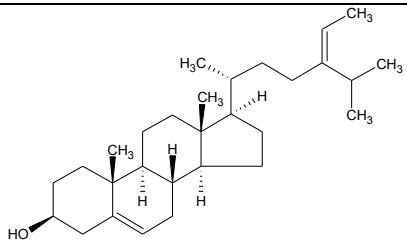
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.

1. Sem identificação; 2. Éster metílico do ácido docosanóico; 3. (3 β ,22 E)-colesta-5,22-dien-3-ol; 4. (3 β ,22 E)-colesta-5,22-dien-3-ol; 5. (3 β)-colesta-5-en-3-ol (colesterol); 6. (3 β ,22 E)-ergosta-5,22-dien-3-ol; 7. (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol; 8. (3 β)-ergosta-5-en-3-ol; 9. (3 β ,22 E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol; 10. (3 β ,24 Z)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol; 11. colesta-5-en-3-ona; 12. (3 β ,24 S)-estigmasta-5-en-3-ol; 13. (3 β ,24 E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; 14. (3 β ,24 Z)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol.

Fonte: A autora, 2018.

Tabela 10 -Substâncias identificadas nas amostras de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 nos experimentos *Top-down* x *bottom-up* e de sombreamento.

Tempo de retenção	Fragmentos (íon)	Íon molecular	Fórmula molecular	Identificação	Estrutura
11.1392	57			Sem identificação	
14.1715	150	354	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	Éster metílico do ácido docosanóico	
15.9047*	255	384	C ₂₇ H ₄₄ O	(3β,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol	
16.0859*	105	384	C ₂₇ H ₄₄ O	(3β,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol	
16.2762	386	386	C ₂₇ H ₄₆ O	(3β)-colesta-5-en-3-ol	
16.5578	271	398	C ₂₈ H ₄₆ O	(3β,22E)-ergosta-5,22-dien-3-ol	
16.6676	271	384	C ₂₇ H ₄₄ O	(3β)-colesta-5,24-dien-3-ol	

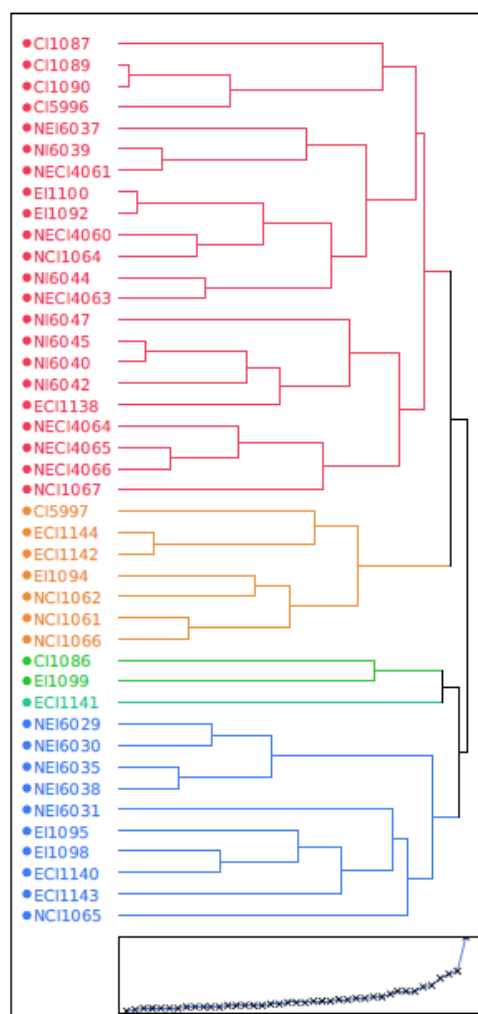
16.8892	289	400	C ₂₈ H ₄₈ O	(3β)-ergosta-5-en-3-ol	
16.9507	314	412	C ₂₉ H ₄₈ O	(3β,22E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol	
17.0640	412	426	C ₃₀ H ₅₀ O	(3β,24Z)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol	
17.1100	124	384	C ₂₇ H ₄₄ O	colesta-5-en-3-ona	
17.3691*	414	414	C ₂₉ H ₅₀ O	(3β,24S)-estigmasta-5-en-3-ol	
17.3993*	314	412	C ₂₉ H ₄₈ O	(3β,24E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	
17.5097	314	412	C ₂₉ H ₄₈ O	(3β,24Z)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	

Legenda - * substâncias identificadas iguais pela biblioteca

Fonte: A autora, 2018.

A análise global de agrupamento do tempo inicial do experimento de *top-down* e *bottom-up* mostrou aleatoriedade dos dados, apresentando cinco agrupamentos diferentes, que não possuíam relação entre os tratamentos, incluindo os controles de artefato (Figura 31).

Figura 31 - Análise de Agrupamento do tempo inicial das amostras da esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 nos Experimentos *Top-down* e *bottom-up*(N=6).

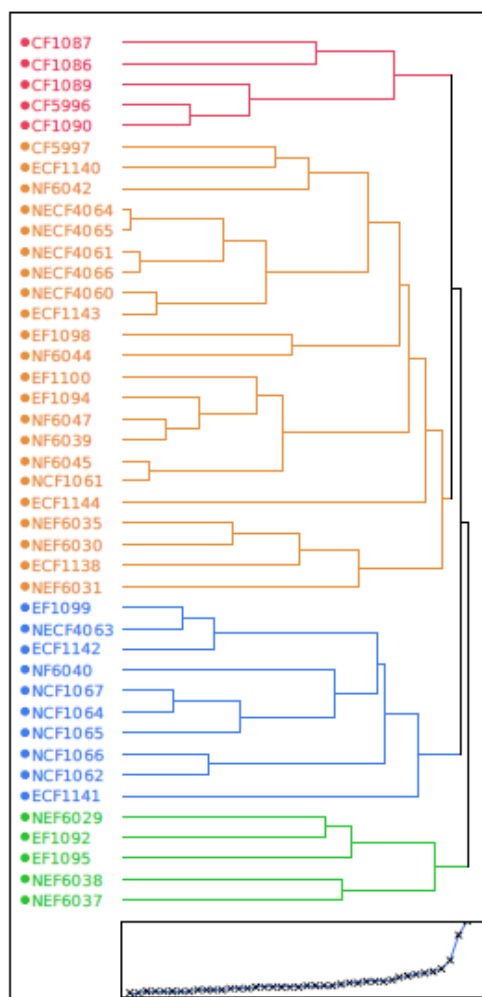


Legenda: CI: Tratamento Controle no tempo inicial; NI: Tratamento Enriquecimento de Nutriente no tempo inicial; EI: Tratamento Exclusão de predação no tempo inicial; NEI: Tratamento Enriquecimento de Nutriente + Exclusão de predação no tempo inicial; NCI: Tratamento Controle de artefato (Enriquecimento de Nutriente) no tempo inicial; ECI: Tratamento Controle de artefato (Exclusão de predação) no tempo inicial; NECI: Controle de artefato Enriquecimento de Nutriente + Exclusão de predação no tempo inicial. Os números representam cada amostra.

Fonte: A autora, 2018.

A análise de Agrupamento no tempo final também não mostrou padrão de agrupamento entre os tratamentos, formando quatro grupos. Apenas as amostras do tratamento controle se agruparam em um único grupo (Figura 32).

Figura 32 - Análise de Agrupamento do tempo final das amostras da esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 no Experimento *top-down* e *bottom-up* (N=6).

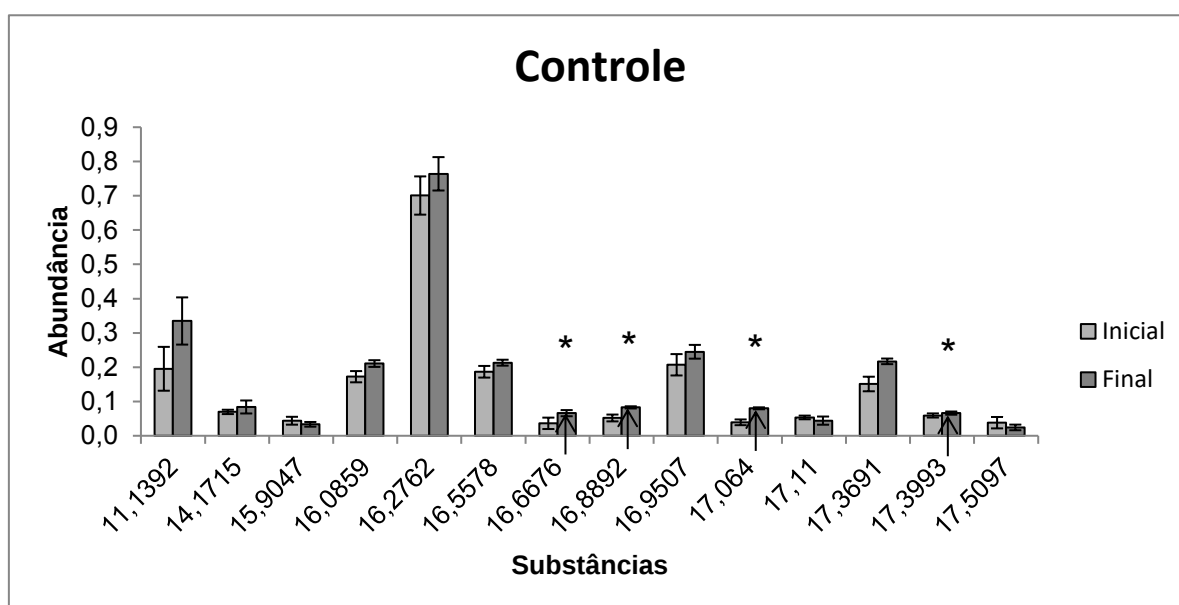


Legenda: CF: Tratamento Controle no tempo final; NF: Tratamento Enriquecimento de Nutriente no tempo final; EF: Tratamento Exclusão de predação no tempo final; NEF: Tratamento Enriquecimento de Nutriente + Exclusão de predação no tempo final; NCF: Tratamento Controle de artefato (Enriquecimento de Nutriente) no tempo final; ECF: Tratamento Controle de artefato (Exclusão de predação) no tempo final; NECF: Controle de artefato Enriquecimento de Nutriente + Exclusão de predação no tempo final. Os números representam cada amostra.

Fonte: A autora, 2018.

As análises pareadas de cada substância entre os tempos final e inicial mostraram que no tratamento controle, de ambos os experimentos, houve um aumento na abundância da maioria dos compostos, porém, as substâncias (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol, colesta-5-en-3-ona, e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol mostraram redução ao longo do tempo nos experimentos (Figura 33). Contudo, foram observadas diferenças significativas no aumento da abundância apenas nas substâncias: (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol, (3 β)-ergosta-5-en-3-ol, (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol, e (3 β ,24*S*)-estigmasta-5-en-3-ol (Tabela 11).

Figura 33 - Abundância das substâncias encontradas nas amostras de *Desmaysamma anchorata* Carter, 1882 no tratamento controle dos experimentos *top-down* x *bottom-up* e de sombreamento (N=6).

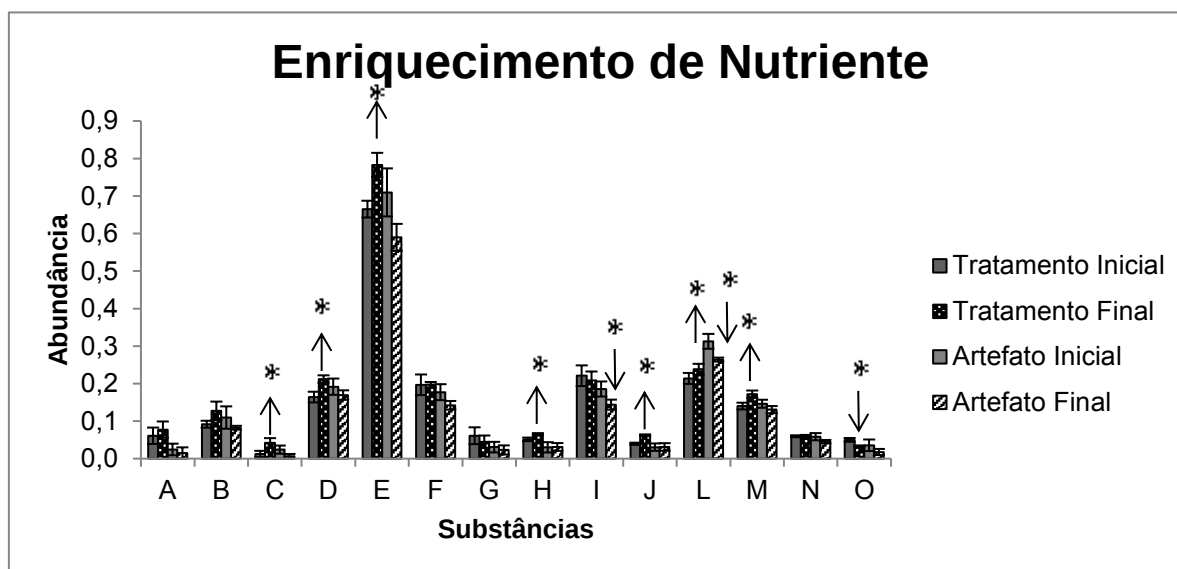


Legenda - Substâncias: A- Sem identificação; B- éster metílico do ácido docosanóico; C- (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol; D- (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol; E- (3 β)-colesta-5-en-3-ol; F- (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol; G- (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol; H- (3 β)-ergosta-5-en-3-ol; I- (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol; J- (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol; L- colesta-5-en-3-ona; M- (3 β ,24*S*)-estigmasta-5-en-3-ol; N-(3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; O- (3 β ,24*Z*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol. Barra de erro= erro padrão.

Fonte: A autora, 2018.

Nos tratamentos de enriquecimento de nutrientes, a abundância média da maioria das substâncias teve um aumento em comparação ao tempo inicial. Apenas quatro substâncias tiveram uma diminuição na abundância (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol; (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol, (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (Figura 34). Esse tratamento foi o que apresentou maior número de diferenças significativas na abundância das substâncias entre o tempo inicial e final (ver Tabela 11). Das oito substâncias que apresentaram diferença significativa, apenas uma reduziu sua abundância entre os tempos estudados. Com relação ao controle de artefato do tratamento de enriquecimento de nutrientes, todos as substâncias tiveram redução na sua abundância (Figura 34), só foram observadas diferenças significativas na abundância de (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol e colesta-5-en-3-ona.

Figura 34 - Abundância das substâncias encontradas nas amostras de *Desmaysamma anchorata* Carter, 1882 no tratamento com enriquecimento de nutrientes, e controle de artefato do tratamento com enriquecimento de nutrientes, dos experimentos *top-down* x *bottom-up* (N=6).

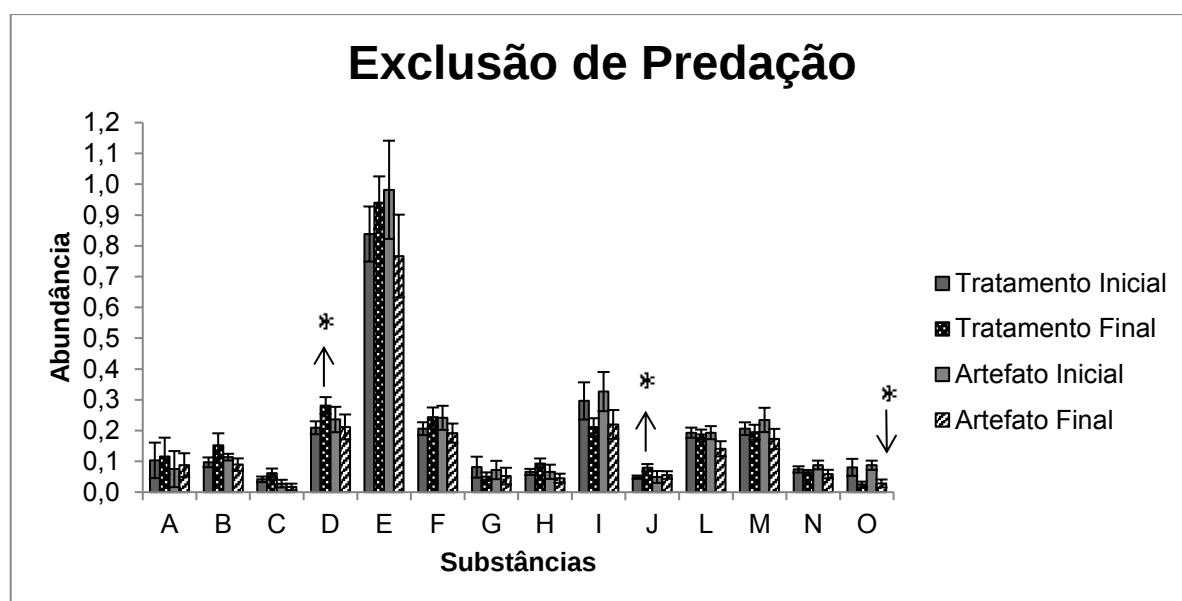


Legenda - Substâncias: A- Sem identificação; B- éster metílico do ácido docosanóico; C- (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol; D- (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol; E- (3 β)-colesta-5-en-3-ol; F- (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol; G- (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol; H- (3 β)-ergosta-5-en-3-ol; I- (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol; J- (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol; L- colesta-5-en-3-ona; M- (3 β ,24*S*)-estigmasta-5-en-3-ol; N- (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; O- (3 β ,24*Z*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol (* Diferença significativa, seta para cima: aumento da abundância, seta para baixo: redução da abundância). Barra de erro= erro padrão.

Fonte: A autora, 2018.

Quase metade das substâncias tiveram redução na sua abundância (3β)-colesta-5,24-dien-3-ol, ($3\beta,22E$)-stigmasta-5,22-dien-3-ol, cholest-5-en-3-one, ($3\beta,24S$)-stigmast-5-en-3-ol, ($3\beta,24E$)-stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; ($3\beta,24Z$)-stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol quando submetidas ao tratamento de exclusão de predação (Figura 35). Porém, só as substâncias ($3\beta,22E$)-colesta-5,22-dien-3-ol e ($3\beta,24Z$)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol aumentaram sua abundância entre o período inicial e final do experimento, e apresentaram diferenças significativas com relação a sua abundância no tempo inicial (Tabela 11). Com relação aos controles de artefato também foram observadas a redução na abundância das substâncias, contudo nesse caso 12 das 14 substâncias tiveram sua abundância reduzida (Figura 35). Apesar disso, só foi observada diferença significativa na abundância de ($3\beta,24E$)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol (Tabela 11).

Figura 35 - Abundância das substâncias encontradas nas amostras de *Desmaysamma anchorata* Carter, 1882 no tratamento com exclusão de predação e controle de artefato do tratamento com exclusão de predação dos experimentos *Top-down* x *bottom-up* (N=6).

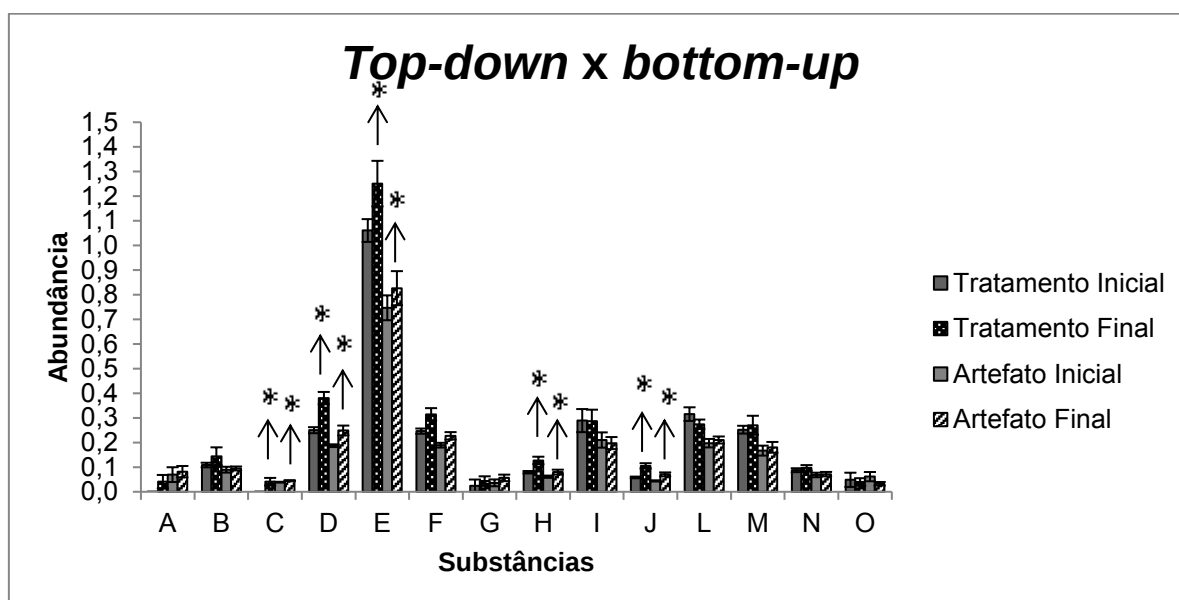


Legenda - Substâncias: A- Sem identificação; B- éster metílico do ácido docosanóico; C- ($3\beta,22E$)-colesta-5,22-dien-3-ol; D- ($3\beta,22E$)-colesta-5,22-dien-3-ol; E- (3β)-colesta-5-en-3-ol; F- ($3\beta,22E$)-ergosta-5,22-dien-3-ol; G- (3β)-colesta-5,24-dien-3-ol; H- (3β)-ergosta-5-en-3-ol; I- ($3\beta,22E$)-estigmasta-5,22-dien-3-ol; J- ($3\beta,24Z$)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol; L- colesta-5-en-3-ona; M- ($3\beta,24S$)-estigmasta-5-en-3-ol; N- ($3\beta,24E$)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; O- ($3\beta,24Z$)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol (* Diferença significativa, seta para cima: aumento da abundância, seta para baixo: redução da abundância). Barra de erro= erro padrão.

Fonte: A autora, 2018.

No tratamento que combina os dois fatores Exclusão de predação x enriquecimento de nutrientes, a abundância de apenas três substâncias foram reduzidas ((3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol), colest-5-en-3-ona e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol), todas as outras substâncias aumentaram sua abundância (Figura 36). Porém, apenas quatro substâncias apresentaram diferenças significativas entre os tempos inicial e final, todos essas aumentando sua abundância ((3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol, (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-ergosta-5-en-3-ol e (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol). As mesmas substâncias também apresentaram diferenças no tratamento de controle de artefato, aumentando sua abundância (Tabela 11). No caso dos controles de artefato apenas duas substâncias mostraram redução de abundância ((3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol).

Figura 36 - Abundância das substâncias das amostras de *Desmaysamma anchorata* Carter, 1882 no tratamento e controle de artefato dos experimentos exclusão de predação + enriquecimento de nutrientes (*top-down* x *bottom-up*) (N=6).



Legenda - Substâncias: A- Sem identificação; B- éster metílico do ácido docosanoico; C- (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol; D- (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol; E- (3 β)-colesta-5-en-3-ol; F- (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol; G- (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol; H- (3 β)-ergosta-5-en-3-ol; I- (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol; J- (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol; L- colest-5-en-3-ona; M- (3 β ,24*S*)-estigmasta-5-en-3-ol; N- (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; O- (3 β ,24*Z*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol (* Diferença significativa, seta para cima: aumento da abundância). Barra de erro= erro padrão.

Fonte: A autora, 2018.

Tabela 11 – Resultados do teste T pareado de cada substância (representado pelo tempo de retenção na análise de CG/EM) observado nas amostras de *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 no experimento de *Top-down* e *bottom-up* (N=6).

	Tratamento				Tratamento Controle de artefato		
	Controle	Enriquecimento de Nutriente	Exclusão de predação	Enriquecimento de Nutriente e Exclusão de predação	Enriquecimento de Nutriente	Exclusão de predação	Enriquecimento de Nutriente e Exclusão de predação
Sem identificação	t=1.93; P>t=0.06	t= 0.67; P>t=0.27	t= 0.15; P>t=0.44	t= 1.52; P>t=0.09	t= -0.38; P<t=0.36	t= 0.16; P>t=0.44	t= 0.43; P>t=0.34
éster metílico do ácido docosanoico	t=1.13; P>t=0.16	t= 1.22; P>t=0.14	t= 1.48; P>t=0.10	t= 0.87; P>t=0.21	t= -0.91; P<t=0.20	t= -1.06; P<t=0.17	t= 0.50; P>t=0.32
(3β,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol	t= -0.81; P<t=0.23	t= 2.48; P>t=0.0276	t=1.77; P>t=0.07	t= 2.62; P>t=0.0235	t= -1.20; P<t=0.14	t= -0.65; P<t=0.27	t= 3.25; P>t=0.0113
(3β,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol	t= 1.75; P>t=0.07	t= 3.51; P>t=0.0085	t= 3.48; P>t=0.0088	t= 5.12; P>t=0.0018	t= -1.06; P<t=0.17	t= -0.35; P<t=0.37	t= 2.66; P>t=0.0224
(3β)-colesta-5-en-3-ol	t= 0.78; P>t=0.23	t= 3.17; P>t=0.0123	t= 1.52; P>t=0.09	t=1.66; P>t=0.078	t= -1.67; P<t=0.08	t= -0.89; P<t=0.21	t= 1.90; P>t=0.06
(3β,22E)-ergosta-5,22-dien-3-ol	t= 1.13; P>t=0.15	t= 0.01; P>t=0.50	t= 1.17; P>t=0.15	t= 2.46; P>t=0.0286	t= -1.55; P<t=0.09	t= -0.85; P<t=0.22	t= 3.08; P>t=0.0137

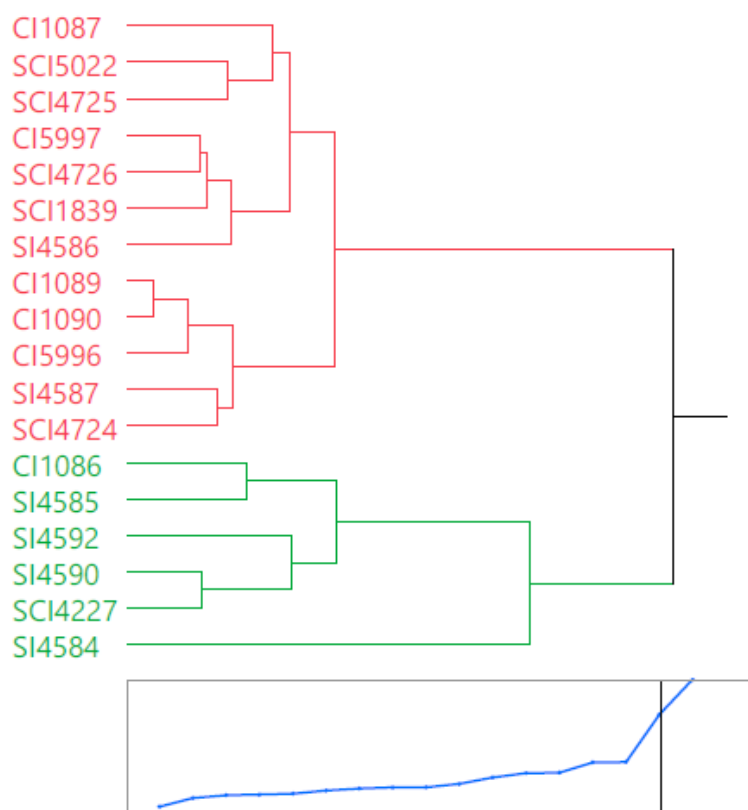
(3 β)- colesta- 5,24- dien-3-ol	t= 2.03; P>t=0.0488	t= -0.73; P<t=0.25	t= -0.71; P<t=0.26	t= 0.49; P>t=0.32	t= -0.40; P<t=0.35	t= -0.45; P<t=0.33	t= 1.47; P>t=0.10
(3 β)- ergosta- 5-en-3-ol	t=2.61; P>t=0.0237	t= 3.98; P>t=0.0052	t= 1.64; P>t=0.08	t= 3.33; P>t=0.0104	t= 0.09; P>t=0.46	t= -0.79; P<t=0.23	t= 2.62; P>t=0.0234
(3 β ,22E)- estigma sta-5,22- dien-3-ol	t= 1.19; P>t=0.14	t= -0.54; P<t=0.31	t= -1.05; P<t=0.17	t= -0.02; P<t=0.49	t= -2.29; P<t=0.0352	t= -1.10; P<t=0.16	t= -0.60; P<t=0.30
(3 β ,24Z)- 24- propilide no- colesta- 5-en-3-ol	t= 3.97; P>t=0.0053	t= 5.95; P>t=0.001	t= 3.04; P>t=0.0144	t= 4.54; P>t=0.0031	t= 0.05; P>t=0.48	t= 0.22; P>t=0.42	t= 2.79; P>t=0.0192
colesta- 5-en-3- ona	t= -0.66; P<t=0.27	t= 2.35; P>t=0.0327	t= -0.64; P<t=0.28	t= -1.42; P<t=0.11	t= -2.06; P<t=0.0469	t= -1.66; P<t=0.08	t= 0.80; P>t=0.23
(3 β ,24S)- estigma sta-5-en- 3-ol	t= 2.50; P>t=0.027	t= 2.44; P>t=0.0291	t= -0.38; P<t=0.36	t= 0.36; P>t=0.37	t= -1.09; P<t=0.16	t= -1.09; P<t=0.16	t= 0.75; P>t=0.24
(3 β ,24E)- estigma sta- 5,24(28)- dien-3-ol	t= 0.67; P>t=0.27	t= -0.10; P<t=0.46	t= -0.77; P<t=0.24	t= 0.58; P>t=0.29	t= -1.46; P<t=0.10	t= -1.25; P<t=0.13	t= 0.36; P>t=0.37

(3 β ,24Z)- estigma sta- 5,24(28)- dien-3-ol	t= -1.26; P<0.13	t= - 3.51; P<0.0085	t= -1.67; P<0.08	t= -0.28; P<0.40	t= -1.15; P<0.15	t= -2.91; P<0.0166	t= -1.81; P<0.07
--	---------------------	------------------------	---------------------	------------------	------------------	-----------------------	------------------

Fonte: A autora, 2018.

No experimento de sombreamento também foi observada a aleatoriedade dos dados no tempo inicial, não havendo agrupamento de nenhum dos tratamentos (Figura 37).

Figura 37-Análise de Agrupamento do tempo inicial das amostras da esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 no Experimento de Sombreamento (N=6).

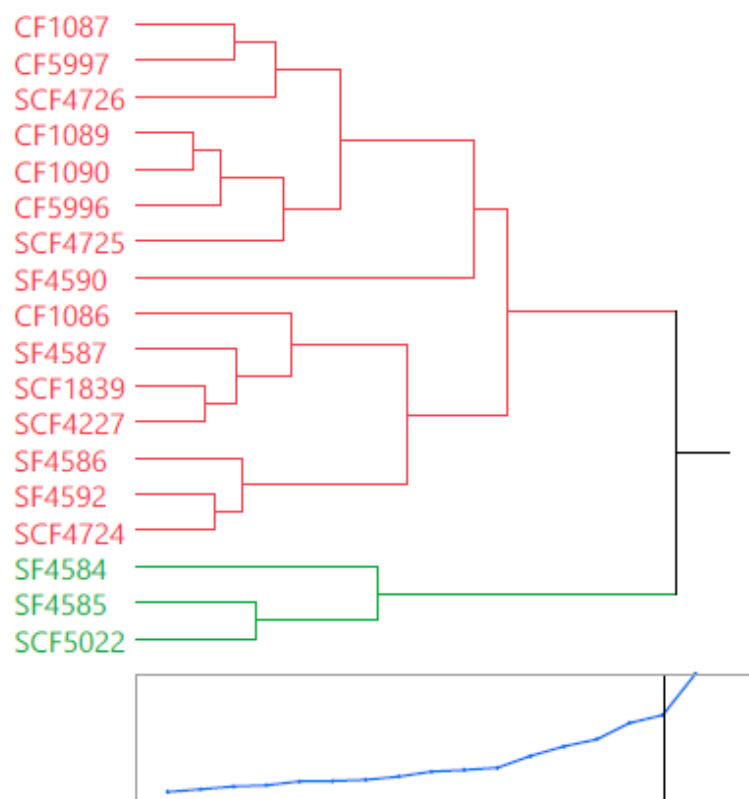


Legenda: CI: Tratamento Controle no tempo inicial; SI: Tratamento de Sombreamento no tempo inicial; SCI: Tratamento Controle de artefato de Sombreamento no tempo inicial. Os números representam cada amostra.

Fonte: A autora, 2018.

A análise global de Agrupamento no tempo final também não apresentou formação de grupos entre tratamentos, não exibindo diferença entre as amostras submetidas aos diferentes bioensaios (Figura 38).

Figura 38- Análise de Agrupamento do tempo final das amostras da esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 no Experimento de Sombreamento (N=6).



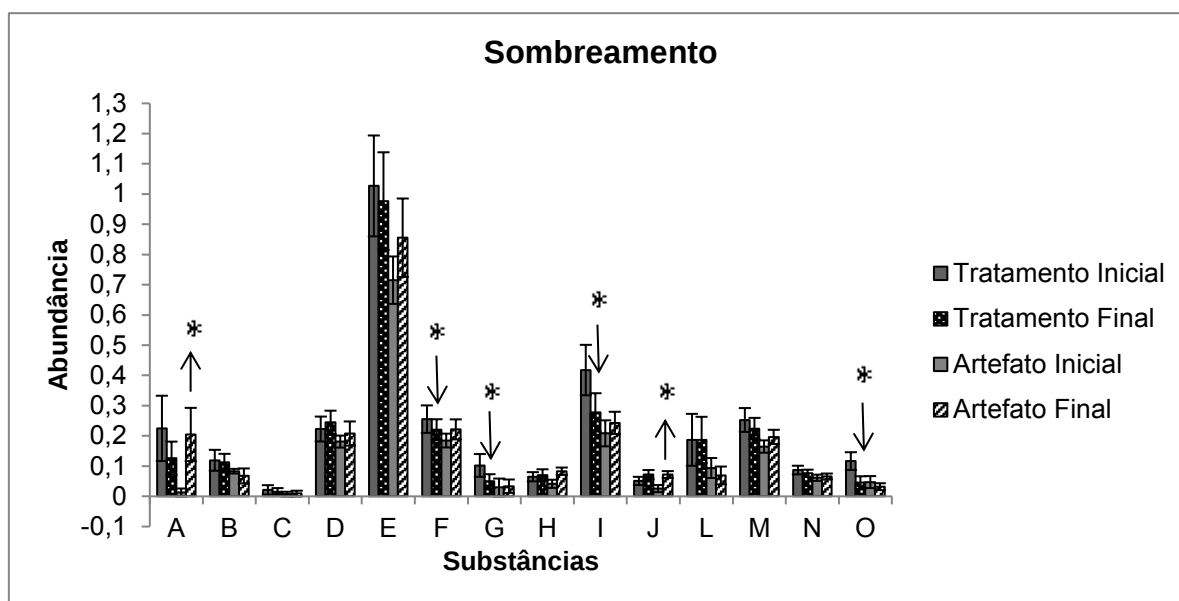
Legenda: CF: Tratamento Controle no tempo final; SF: Tratamento de Sombreamento no tempo final; SCF: Tratamento Controle de artefato de Sombreamento no tempo final. Os números representam cada amostra.

Fonte: A autora, 2018.

Na análise individual, a abundância das substâncias no tratamento de aumento de sombreamento diminuiu na maioria dos casos, 11 substâncias das 14 encontradas reduziram sua abundância (Figura 39). Desses 11, quatro apresentaram diferenças significativas entre o tempo final e inicial ((3 β ,22 E)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol, ((3 β ,22 E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol), e (3 β ,24 E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol) (Tabela 12). No caso do controle de artefato, apenas três substâncias reduziram sua abundância (éster metílico do ácido docosanóico, colest-5-en-3-ona e (3 β ,24 E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol). Contudo, as substâncias que apresentaram diferença significativa entre o tempo inicial e final, aumentaram sua

abundância (Substância sem identificação e (3 β ,24Z)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol) (Tabela 12).

Figura 39- Abundância das substâncias encontradas nas amostras de *Desmapsamma anchorat* aCarter, 1882, no tratamento com sombreamento e controle de artefato do tratamento (N=6).



Legenda - Substâncias: A- Sem identificação; B- éster metílico do ácido docosanóico; C- (3 β ,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol; D- (3 β ,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol; E- (3 β)-colesta-5-en-3-ol; F- (3 β ,22E)-ergosta-5,22-dien-3-ol; G- (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol; H- (3 β)-ergosta-5-en-3-ol; I- (3 β ,22E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol; J- (3 β ,24Z)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol; L- colesta-5-en-3-ona; M- (3 β ,24S)-estigmasta-5-en-3-ol; N- (3 β ,24E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; O- (3 β ,24Z)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol (* Diferença significativa, seta para cima: aumento da abundância, seta para baixo: redução da abundância). Barra de erro= erro padrão.

Fonte: A autora, 2018.

Tabela 12-Resultados do teste T pareado de cada substância (representado pelo tempo de retenção na análise de CG/EM) observado nas amostras de *Desmampsamma anchorata* Carter, 1882 no experimento de Sombreamento (N=6)

	Controle		Sombreamento		Controle de artefato Sombreamento	
Sem identificação	t=1.93;	P>t=0.06	t= -0.96;	P<t=0.19	t= 2.02;	P>t= 0.0496
éster metílico do ácido docosanóico	t=1.13;	P>t=0.16	t= -0.24; P<t=0.41		t= 0.78; P<t=0.23	
(3 β ,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol	t= -0.81; P<t=0.23		t= -1.52; P<t=0.09		t= 0.13; P>t=0.45	
(3 β ,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol	t= 1.75; P>t=0.07		t= 0.95; P>t=0.19		t= 0.52; P>t=0.31	
(3 β)-colesta-5-en-3-ol	t= 0.78; P>t=0.23		t= -0.78; P<t=0.24		t= 0.72; P>t=0.25	
(3 β ,22E)-ergosta-5,22-dien-3-ol	t= 1.13; P>t=0.15		t= -2.47; P<t=0.0282		t= 0.72; P>t=0.25	
(3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol	t= 2.03; P>t=0.0488		t= -2.80; P<t=0.0189		t= 0.01; P>t=0.46	
(3 β)-ergosta-5-en-3-ol	t=2.61; P>t=0.0237		t= 0.28; P>t=0.39		t= 0.78; P>t=0.07	
(3 β ,22E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol	t= 1.19; P>t=0.14		t= -2.45; P<t=0.0289		t= 0.56; P>t=0.30	
(3 β ,24Z)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol	t= 3.97; P>t=0.0053		t= 1.45; P>t=0.10		t= 2.13; P>t=0.0432	
colesta-5-en-3-ona	t= -0.66; P<t=0.27		t= -0.01; P<t=0.50		t= -0.59; P<t=0.29	
(3 β ,24S)-estigmasta-5-en-3-ol	t= 2.50; P>t=0.027		t= -0.87; P<t=0.21		t= 0.80; P>t=0.23	
(3 β ,24E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	t= 0.67; P>t=0.27		t= -1.28; P<t=0.13		t= 0.25; P>t=0.41	
(3 β ,24Z)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	t= -1.26; P<t=0.13		t= -2.61; P<t=0.0237		t= -0.67; P<t=0.26	

Fonte: A autora, 2018.

4.6 Discussão

Desmapsamma anchorata mostrou-se importante na avaliação de respostas, utilizando os esteróis como possíveis indicadores subletais de estresses ambientais. As análises cromatográficas dos extratos brutos das esponjas *D. anchorata* que foram manipuladas experimentalmente revelaram grande quantidade de esteróis em seus tecidos. Os organismos marinhos contêm uma variedade muito mais diversificada de esteróis do que os organismos terrestres (KREBS 1988). As esponjas marinhas por sua vez, produzem uma variedade ainda maior e biologicamente sem precedentes de esteróis, entre outras substâncias encontradas entre os invertebrados (MEHBUB et al 2014). Em outros estudos também já foi observado, que *D. anchorata* produziu uma grande quantidade de esteróis (QUIJANO et al. 1994), inclusive em estudos na região da Baía de Ilha Grande (FERREIRA 2016; FLEURY et al. 2008a; PETRONILHO 2008). Além das funções estruturais, os esteróis possuem múltiplas funções de defesa química, como: atividades anti-incrustantes, alelopáticas, e antipredação (RIBEIRO 2008; GUENTHER et al. 2009; LAGES et al. 2012), e atividades biológicas, como: citotóxica, antiviral, antimicrobiana, e inibidora de enzimas (SEO et al. 1997).

O colesterol ((3 β)-colest-5-en-3-ol) foi o produto de maior abundância nas amostras analisadas no presente estudo, e em um estudo pretérito na mesma região (FERREIRA 2016). Essa substância também é considerada abundante na região do Caribe em espécimes de *D. anchorata* (CARBALLEIRA e MALDONADO 1988; CARBALLEIRA e SHALABI 1994). O colesterol é amplamente distribuído e pode ser encontrado em quase todas as espécies de esponjas. Esse composto pode estar associado a atividades anti-inflamatórias e anti-oxidantes (PERDICARIS et al. 2013).

A análise global de agrupamento dos experimentos de *top-down* e *bottom-up* e de sombreamento não mostraram padrões de agrupamento de acordo com os tratamentos, podendo estar relacionada a ampla variação na produção de compostos dessa esponja. Kanazawa (2001) relata que os esteróis das esponjas são muito susceptíveis às variações do habitat, pois eles podem ser derivados de fontes exógenas ou de modificações de esteróis alimentares, ou ainda porque a biossíntese de esteróis nas esponjas parece não ter um lugar exato de processamento, ou serem biossintetizados muito lentamente. A esponja marinha endêmica *Mycale hentscheli*

também apresentou variação na sua composição química em um pequeno gradiente latitudinal na Nova Zelândia (PAGE et al. 2005). Outra esponja que também apresentou variação na sua produção química em uma escala espacial reduzida foi a *Halicionasp.*, que apresentou variação na concentração da substância salicililalamida A em uma área de 1200km na costa oeste da Austrália (ABDO et al. 2007).

De uma maneira geral, as maiores diferenças significativas foram observadas nos tratamentos com enriquecimento de nutrientes, o que pode representar uma evidência de controle *bottom-up* sobre a produção de metabólitos de *D. anchorata*. Petronilho (2008) também observou que o enriquecimento de nutrientes influenciou a produção de metabólitos secundários na mesma espécie de esponja. Houve uma variação quantitativa da produção de 5,9-hexacosadienoato de metila e do colesterol entre as amostras controles e tratamentos (PETRONILHO 2008). Sabe-se que os esteróis presentes nas esponjas, possuem principalmente um papel funcional, constituintes da membrana celular e envolvidos na estocagem de energia. O aumento da abundância das substâncias provavelmente está associado a um maior aporte de nutrientes, aumentando assim suas reservas energéticas (SMYRNIOTOPOULOS et al. 2015). Recentemente foi descoberto que as esponjas são consideradas ‘forrageadoras ótimas’, isso significa que são capazes de integrar sua absorção nutricional ao longo do tempo, para tirar proveito não só de pulsos de alimentos de alta qualidade no meio, mas também da disponibilidade de nutrientes (N, P) (PAWLIK et al. 2018). Sendo assim, as esponjas podem se adaptar melhor com as diferentes quantidades de nutrientes disponíveis no meio, e com isso, deslocar seus nutrientes para produção de metabólitos (PAWLIK et al. 2018).

Entre os tratamentos analisados, o tratamento de exclusão de predação foi o que apresentou o menor número de diferenças significativas na abundância das substâncias (3 β ,22E)-colesta-5,22-dien-3-ol e (3 β ,24Z)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol entre os tempos iniciais e finais do experimento. Até a década de 1990, os ecólogos marinhos geralmente assumiram que a predação tinha poucos efeitos sobre as populações de esponjas, já que poucos predadores foram observados se alimentando de esponjas (RANDALL e HARTMAN 1968). Contudo, posteriormente, outros estudos mostraram que muitas espécies de esponjas em recifes produziam em seus tecidos, metabólitos secundários desagradáveis, o que impediam a predação (PAWLIK 2011). No nosso estudo há evidências de que a ausência de macropredadores pode ter “reduzido” a produção de metabólitos pelas esponjas, ou não influenciaram o aumento

da sua produção. Em um outro trabalho realizado no Atlântico Norte, indivíduos de *D. anchorata* se mostraram exclusivamente palatáveis, em locais onde o índice de predação era muito baixo (MARTY et al. 2016).

Nossos resultados também mostraram diferenças significativas na abundância de (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol, (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-ergosta-5-en-3-ol, e (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol nos tratamentos que possuíam a interação dos controles *top-down* e *bottom-up*, porém nessa condição, não podemos afirmar se a interação dos fatores influenciou a produção de metabólitos, pois os mesmos produtos mostraram diferenças significativas nos tratamentos de controle de artefato. O uso de gaiolas para experimentos de exclusão de predação é muito discutido, pois pode reduzir a incidência de luz e causar alterações no fluxo de água (MILLER e GAYLORD 2007). No entanto, nos tratamentos com apenas exclusão de predação, essas diferenças não foram observadas.

Em síntese, no presente estudo podemos afirmar que, na produção de metabólitos secundários, há uma maior influência das forças *bottom-up* (enriquecimento de nutrientes) como resposta metabólica aos distúrbios. Esses resultados corroboram os estudos prévios com *D. anchorata* (FERNANDES 2014 e PETRONILHO 2008) na região da Baía de Ilha Grande, e no Caribe, com a espécie *Callyspongia vaginalis* (Lamarck, 1814) (TRUSSELL et al. 2006).

No experimento de sombreamento foi observada uma redução na abundância das substâncias (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol, (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol, e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol com diferença significativa entre o tempo final e inicial. Algumas espécies de esponjas não deveria ser necessariamente afetada pela luminosidade, mas já que observamos uma diminuição na abundância dos compostos isso pode indicar a associação com algum organismo fotossintético simbiote a esponja (TRACKER 2005). A esponja *Dysidea granulosa* também diminuiu sua concentração de difenil éteres poli-bromados quando transplantada para diferentes regimes de iluminação (BECERRO e PAUL 2004). Em contrapartida, outras espécies como as esponjas *Crambe crambe* (Schmidt, 1862) e *Agelas oroides* (Schmidt, 1864) foram encontradas mais tóxicas em habitats sombreados, do que em habitats bem iluminados (BECERRO et al. 1995; FERRETTI et al. 2009). Um terceiro estudo revelou que as esponjas do gênero *Aplysina* da Croácia no Mar Mediterrâneo transplantada em diferentes profundidades não alteraram suas concentrações do alcaloide bromoisoxazolina (PUTZ et al. 2009).

Sendo assim, a produção de compostos bioativos nas esponjas parece ser específicos e responde aos fatores ecológicos do local (por exemplo, luz, predação, enriquecimento de nutrientes), conforme sugerido por Page et al. (2005). Nossos resultados indicam que os experimentos manipulativos modificaram a produção das substâncias (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol,(3 β)-colesta-5-en-3-ol,(3 β)-ergosta-5-en-3-ol, (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol, (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol, (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol, e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, ((3 β ,24*Z*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol), colesta-5-en-3-ona.

Compreender os efeitos relativos de diferentes fatores está se tornando cada vez mais importante, à medida que os seres humanos alteram os ecossistemas, removendo os consumidores e aumentando os nutrientes (SMITH et al. 1999), e afetando a disponibilidade luminosa em grandes escalas espaciais. Os poríferos, como demonstrado aqui, foram particularmente importantes na avaliação de respostas, utilizando produtos naturais (esteróis) como possíveis indicadores subletais de estresses.

4.7 Conclusão

- Os esteróis da esponja *Desmapsamma anchorata* mostraram-se possíveis indicadores subletais de estresses ambientais.
- A análise de CG/EM dos extratos brutos de *Desmapsamma anchorata* submetidas a diferentes distúrbios manipulativos em campo revelou 14 substâncias principais, que foram compartilhados entre todas as amostras de *D. anchorata*. Dessas substâncias, uma não foi identificada, um pertencia a classe de ácidos graxos, e os outros 12, a classe dos esteróis.
- O esterol majoritário de todas as amostras foi o colesterol.
- A análise global de agrupamento com o total de produção química da esponja *D. anchorata* não apresentou padrão entre os diferentes experimentos de *top-down* e *bottom-up*, e nem de sombreamento.
- Os esteróis (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5-en-3-ol, (3 β)-ergosta-5-en-3-ol, (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol, (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5,24-dien-3-ol, (3 β ,22*E*)-estigmasta-5,22-dien-3-ol, e (3 β ,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, ((3 β ,24*Z*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, colesta-5-en-3-onamostraram-se eficientes como biomarcadores de estresses por enriquecimento de nutrientes no meio, exclusão de predadores e pelo sombreamento), auxiliando a diminuir os impactos ambientais.

5 ALOCAÇÃO DE RECURSOS NA ESPONJA MARINHA *DESMAPSAMMA ANCHORATA* NA BAÍA DE ILHA GRANDE: CRESCIMENTO VS PRODUÇÃO QUÍMICA

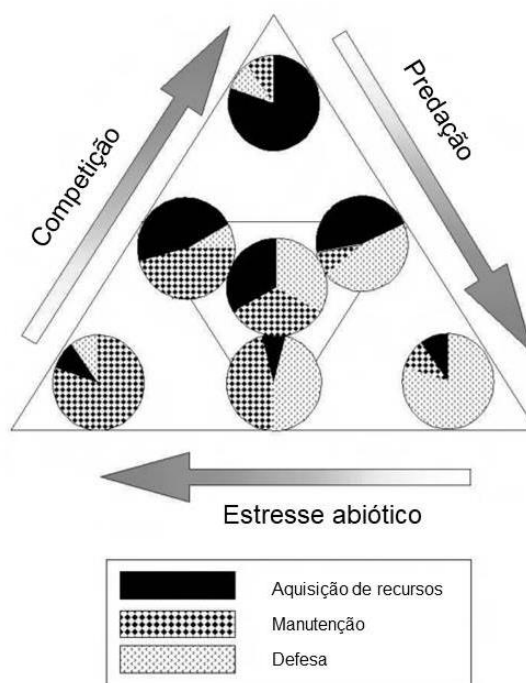
5.1 Introdução

O ambiente marinho é uma rica fonte de compostos bioativos isolados de inúmeros organismos, com múltiplas funções ecológicas (HAY e FENICAL 1996; HAY 2009). Vários modelos teóricos sobre alocação de recursos foram desenvolvidos para explicar o padrão de variação e abundância dos metabólitos secundários (CRONIN 2001), incluindo sua mediação sobre os aspectos evolutivos de interações ecológicas.

Muitas vezes, presume-se que produzir defesas químicas pode ser um processo de alto custo para o organismo, pois o recurso é desviado de processos vitais como: crescimento, reprodução, manutenção do organismo e reserva energética (CRONIN 2001). Vários autores investigaram as inter-relações entre o crescimento de esponjas e o investimento em defesa química (THOMS e SCHUPP 2007). Loh e Pawlik (2014), por exemplo, já observaram que embora muitas espécies de esponjas do Caribe sejam quimicamente defendidas por metabólitos secundários que incluem alcalóides, terpenoides, esteróis, etc., outras espécies são palatáveis para predadores, revelando um *trade-off* de recursos entre a produção e a manutenção de metabólitos secundários versus outras funções vitais. Walters e Pawlik (2005) demonstraram que as espécies de esponjas quimicamente defendidas tinham taxas mais lentas de cicatrização do que espécies quimicamente indefesas, por exemplo.

Cronin (2001) desenvolveu um modelo conceitual para demonstrar como ocorre a alocação de recursos (matéria e energia) em diferentes situações. Dentro do esquema em triângulo, cada fatia das tortas representa a alocação de recursos, enquanto o restante é subtraído da quantidade de recursos disponíveis para os demais processos. O sucesso relativo de cada padrão de alocação depende das condições bióticas e abióticas em que o organismo se encontra (Figura 40).

Figura 40 - Diferentes padrões de alocação de recursos de acordo com diferentes pressões ambientais.



Fonte: modificado de Cronin, 2001.

Dentre diversas hipóteses sugeridas por Cronin (2001), a teoria do balanço carbono/nutriente prediz que a disponibilidade de recursos do ambiente, especialmente a de nutrientes e carbono, pode influenciar a produção de defesas químicas. Quando os recursos disponíveis excedem os níveis de demanda necessários para o crescimento, o excesso estará disponível para a produção de defesas químicas (CRONIN 2001).

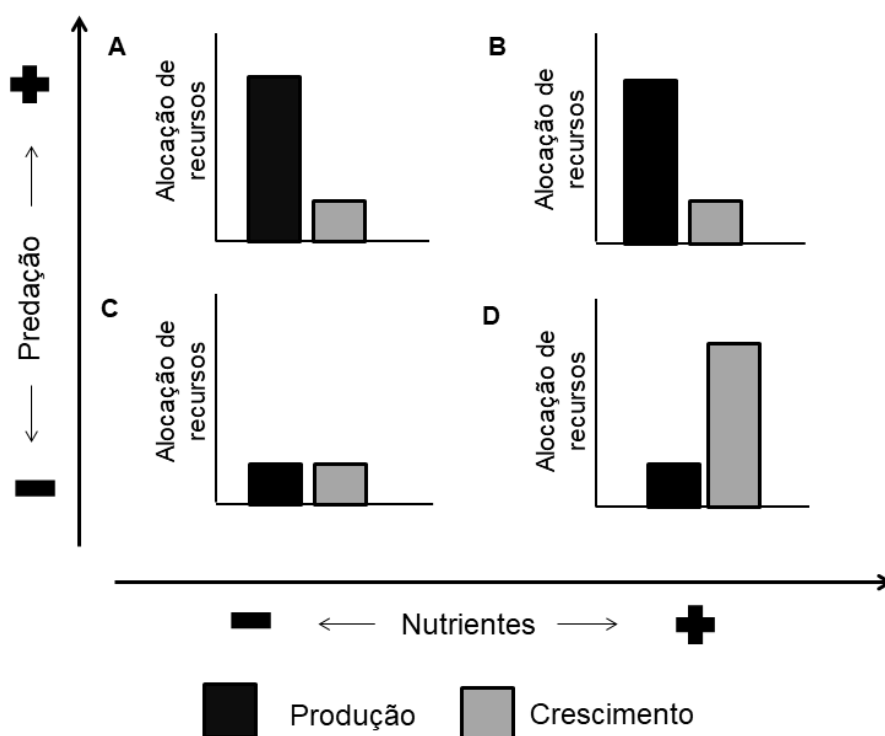
Contrária a essa teoria observamos a Teoria de Estresse Ambiental, que leva em consideração a pressão de estresses ambientais sobre os organismos. De uma maneira geral, nessas condições, os organismos produzem menos metabólitos secundários, quando comparados aos não submetidos a condições de estresse. O estresse pode ser qualquer alteração do ambiente que interfira no desempenho ideal do organismo (CRONIN 2001). É importante ressaltar que os produtos naturais, além de auxiliarem na reprodução, e defesas químicas dos organismos, também participam das respostas a estresses químicos e físicos do ambiente (CRONIN 2001). Uma terceira teoria, a Teoria de Defesa Ótima, ainda considera que os organismos alocam as defesas de forma a maximizar sua aptidão (chamado aqui como “fitness”), pois a

produção de defesa é dispendiosa quando os inimigos estão ausentes (CRONIN 2001).

Esponjas possuem um grande potencial de fornecer informações excepcionalmente detalhadas sobre o passado dos oceanos, incluindo histórico das variações climáticas ao longo do tempo (ELLWOOD e KELLY 2003). As esponjas podem ser consideradas um modelo de táxon para comparar os processos ecológicos, através de grandes escalas espaciais (CARBALLO et al. 2008). Infelizmente, elas são frequentemente ignoradas dentro de pesquisas em larga escala, devido a problemas associados com a disponibilidade de conhecimento especializado em taxonomia, embora textos recentes já estejam relatando sobre a importância das esponjas e enfrentando esses problemas, (p.e. BELL 2008, BELL et al. 2015). Esses organismos possuem importante relevância ecológica e biotecnológica nos ciclos de nutrientes marinhos (DIAZ e RUETZLER 2001, de GOEIJ et al. 2013), por serem considerados um dos maiores produtores de produtos naturais marinhos (MEHBUB et al 2014). Além disso, diversos estudos já vêm mostrando as estratégias de alocação de recursos das esponjas. Pawlik e colaboradores (2008) relataram que as esponjas que não possuem defesa química apresentaram maior taxa de crescimento e recrutamento. Turon e colaboradores (1998) relataram padrões sazonais na taxa de crescimento e nível de toxicidade da esponja *Crambe crambe*, do Mediterrâneo, e observaram uma correlação negativa significativa entre esses parâmetros.

Baseado nos modelos de alocação de recursos de Cronin (2001) criamos um quadro hipotético (Figura 41) para avaliar qual teoria de defesa (Hipótese Balanço Carbono/Nutriente; Teoria de Estresse Ambiental; Teoria de Defesa Ótima), melhor se adequa a estratégia de alocação de recurso da esponja *D. anchorata*, utilizando como fatores a exclusão de predação e o enriquecimento de nutrientes (Figura 41).

Figura 41 - Quadro hipotético sobre diferentes formas de alocação de recursos referentes aos fatores exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (modificado de Cronin 2001).



Fonte: A autora, 2018

Nesse modelo observamos diferentes situações que nos mostram como a alocação de recursos pode ser empregado pelas esponjas *D. anchorata*, com relação à ausência de predação e ao aumento de nutrientes. Em condições estressantes, os custos da produção de metabólitos secundários podem ser elevados, e a capacidade de produzir defesas químicas pode ser aumentada, como no caso da presença de pressão de predação (A), mesmo que o estresse de enriquecimento de nutrientes esteja presente (B). Ou, os custos podem ser reduzidos quando a predação for excluída (C), e houver um aumento de disponibilidade de nutrientes no meio (D). Os custos de defesa podem ser diretos (por exemplo, o custo biossintético da produção de um metabólito defensivo particular), ou indiretos (por exemplo, redução do investimento em crescimento), os quais são notoriamente difíceis de serem medidos (ZANGERL e BAZZAZ 1992). Por conseguinte, a toxicidade natural e a produção de

metabólitos secundários de um organismo devem variar em relação às funções biológicas primárias (como p.e. o crescimento), ou às respostas aos parâmetros ambientais (IVANISEVIC et al. 2011), como resultado de um conflito de escolhas (chamado aqui de *trade-off*). Sendo assim, pretendemos observar se existe relação entre a produção de metabólitos e o crescimento da esponja *D. anchorata*, em condições de exclusão de predação e de enriquecimento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*, respectivamente).

5.2 Objetivo Geral

Avaliar se ocorre um *trade-off* entre o crescimento e a produção de metabólitos secundários pela esponja *Desmapsamma anchorata*, em condições manipulativas *in situ*, na Baía de Ilha Grande, RJ.

5.2.1 Objetivos específicos

1. Avaliar de que forma a esponja *Desmapsamma anchorata* aloca seus recursos (crescimento ou produção de metabólitos secundários), em condições de exclusão de predação e aumento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*, respectivamente).
2. Avaliar em qual modelo teórico de defesa química (Hipótese Balanço Carbono/Nutriente; Teoria de Estresse Ambiental; Teoria de Defesa Ótima) pode estar relacionada a alocação de recursos, investida pela esponja *D. anchorata*, em condições de exclusão de predação e aumento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*).

5.3 Hipótese

1. A alocação de recursos está direcionada à produção de defesas, e não ao crescimento, nas condições em que existe a predação, independente da quantidade de nutrientes.
2. A alocação de recursos é maior para o crescimento, nas condições de aumento de nutrientes e exclusão de predação.
3. A alocação de recursos não mostra diferenças entre a produção de defesas e as taxas de crescimento, quando os predadores forem excluídos e a quantidade de nutrientes não for aumentada.

5.4 Material e métodos

Os dados para análise de alocação da disponibilidade de recursos pela esponja *D. anchorata* foram retirados dos dados brutos gerados a partir dos experimentos manipulativos *in situ top-down x bottom-up*, descritos nos capítulos 3 (crescimento), e 4 (produção de metabólitos secundários).

Levando em consideração que a esponja *D. anchorata* possui um crescimento exponencial foram calculadas suas taxas de crescimento a partir de um modelo de regressão linear, onde os valores de k (coeficiente angular) indicaram qual a taxa de crescimento das amostras de esponjas, em cada tratamento (controle, enriquecimento de nutrientes, exclusão de predação e interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação ($N=6$)), incluindo todos os tempos (T_0 = implantação, $T_1=33$ dias, $T_2=54$ dias e $T_3=131$ dias).

O índice de resposta das taxas de crescimento foi calculado a partir da divisão do valor das taxas de crescimento médio de *D. anchorata* de cada tratamento pelo tratamento controle (tratamento que não recebeu nenhuma manipulação).

Para observar os dados de produção química foram calculadas as médias totais de produção de metabólitos secundários por tratamento (controle, enriquecimento de nutrientes, exclusão de predação e interação dos fatores enriquecimento de nutrientes

+ exclusão de predação), apenas com os últimos dados que foram gerados na retirada do experimento (T3= 151 dias). Da mesma forma que os índices de resposta das taxas de crescimento, os dados médios de produção também foram divididos pelo tratamento controle. Desta forma, os dados de crescimento e produção de metabólitos puderam ser comparáveis.

Os dados dos índices foram transformados em $\log_{10}$. O índice de resposta é uma estimativa do tamanho do efeito com valores simétricos positivos ou negativos, de acordo com o aumento ou diminuição relativa da taxa de crescimento e da produção de metabólitos secundários, em relação a seus tratamentos controles, respectivamente. O índice é zero (0) quando não há efeito (adaptado de LOURENÇO-AMORIM et al. 2014).

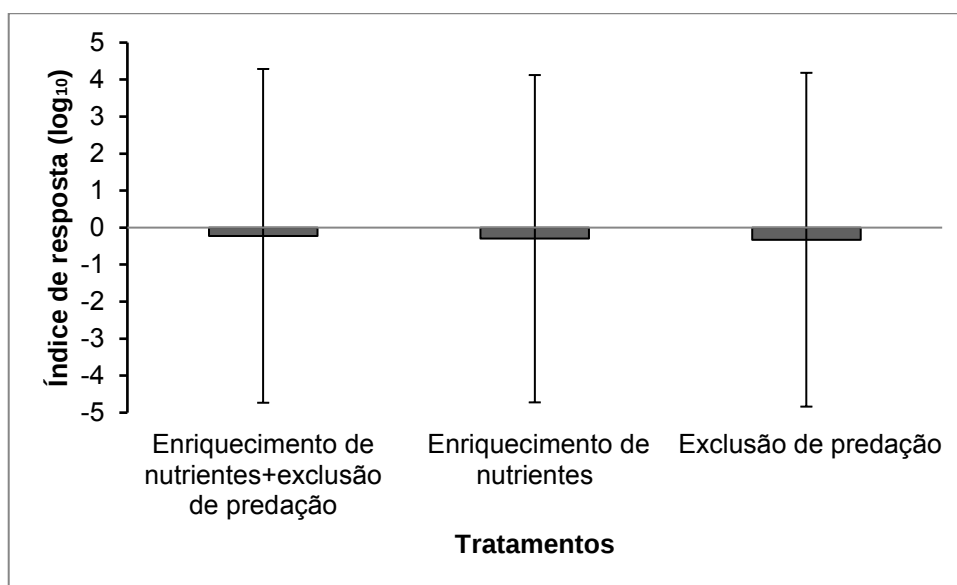
Um teste t foi realizado para observar as diferenças entre os índices de resposta dos dados de taxa de crescimento e de produção de metabólitos secundários.

5.5 Resultados

Os índices de respostas dos dados de taxa de crescimento das esponjas *D. anchorata* que foram manipuladas nos bioensaios *in situ* mostraram redução em todos os tratamentos (enriquecimento de nutrientes, exclusão de predação e interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação), quando comparados com o tratamento controle, ou seja, houve um efeito negativo com relação aos tratamentos.

No tratamento de interação exclusão de predação + enriquecimento de nutrientes (*top-down* x *bottom-up*) o índice resposta foi considerado maior (média ($\log_{10}$): -0,22, DP: $\pm 4,5$), com relação ao tratamento de enriquecimento de nutrientes (média: -0,30, DP: $\pm 4,42$), e exclusão de predação (média: -0,33, DP: $\pm 4,5$) (Figura 42).

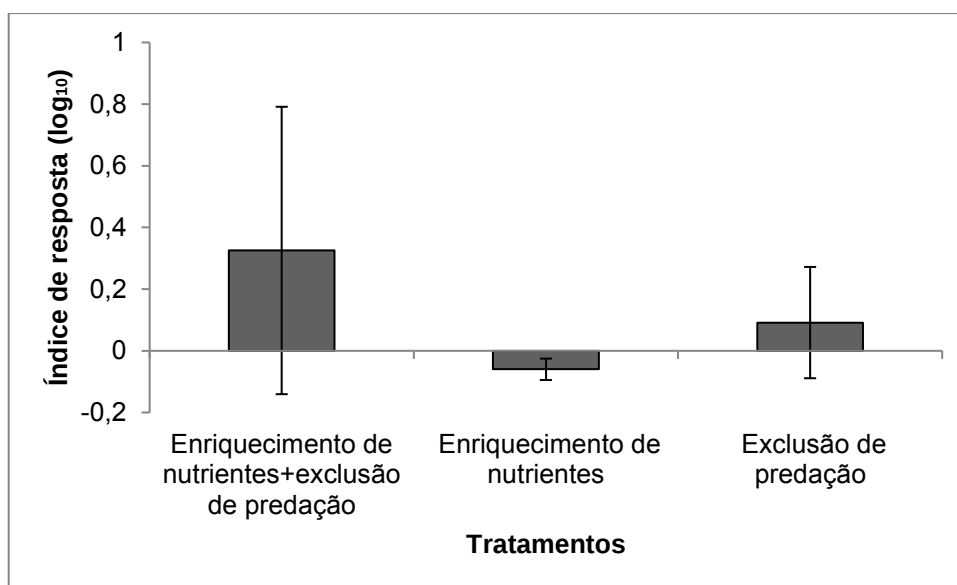
Figura 42 - Índices de respostas das taxas de crescimento das esponjas *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 submetidas aos seguintes tratamentos: Interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação, enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação) em relação ao tratamento controle.



Fonte: A autora, 2018.

Os índices resposta dos dados de produção química apresentaram respostas positivas com relação ao controle, nos tratamentos interação exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*) (média: 0,32; DP: $\pm 4,6$), e no de exclusão de predação (média: -0,09, DP: $\pm 0,18$), enquanto que no tratamento de enriquecimento de nutrientes (média: -0,06, DP: $\pm 0,03$) o índice teve uma resposta menor com relação ao tratamento controle (Figura 43).

Figura 43 - Índices respostas da produção química das esponjas *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 submetidas aos tratamentos: Interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação, enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação) em relação ao tratamento controle.



Fonte: A autora, 2018.

Comparando os índices de respostas das taxas de crescimento e de produção química não foi possível observar diferenças significativas entre os dois fatores testados (Tabela 13). Ainda assim, consideramos que a diferença dos índices de respostas da produção química foi maior que as respostas da taxa de crescimento nos tratamentos interação dos fatores exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (*top-down* x *bottom-up*), e exclusão de predação, pois os resultados foram positivos com relação ao tratamento controle.

Tabela 13 – Resultados testes T entre os índices de respostas da taxa de crescimento e produção química da esponja *Desmpasamma anchorata* Carter, 1882, submetida aos tratamentos Interação dos fatores enriquecimento de nutrientes + exclusão de predação, enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação) em relação ao tratamento controle.

Tratamentos	Teste t
Exclusão de predação + enriquecimento de nutrientes	$t_{14}=-0.89$; $p=0.19$
Enriquecimento de nutrientes	$t_{14}=-0.51$; $p=0.31$
Exclusão de predação	$t_{14}=-0.77$; $p=0.23$

Fonte: A autora, 2018.

5.6 Discussão

Os padrões de alocação de recursos foram extensivamente estudados em plantas terrestres (por exemplo, NÚÑEZ-FARFÁN et al. 2007). Uma teoria central para a defesa das plantas contra os consumidores é a Hipótese da Defesa Ótima, que propõe que as defesas são dispendiosas e que custeiam outras funções como o crescimento e a reprodução (STRAUSS et al. 2004). Essa teoria já vem sendo discutida para vários organismos marinhos, como macroalgas e invertebrados, como as esponjas (CRONIN 2001; LEONG e PAWLIK 2010; PAWLIK 2011, PAWLIK et al. 2018). No presente estudo observamos que a produção química teve uma resposta positiva com relação ao seu controle, ou seja, a produção dos metabólitos foi maior quando as esponjas foram submetidas aos distúrbios de enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação. Porém, essas respostas não foram significativamente diferentes.

Os índices de resposta das taxas de crescimento foram negativos com relação ao tratamento controle. Desta forma, não houve efeito dos tratamentos manipulados sobre o crescimento de *D. anchorata*. Em outro estudo, realizado no mar do Caribe, não foi encontrada evidência de que a temperatura e a salinidade nos locais de estudo

desempenharam um papel importante na distribuição e abundância de *Desmapsamma* (MCLEAN 2006). Em contrapartida, esponjas como a *Callyspongia vaginalis* foram influenciadas pelas forças ascendentes, como o enriquecimento de nutrientes na água (*bottom-up*). Elas apresentaram crescimento substancialmente maior em profundidades onde a abundância de picoplâncton foi maior.

Os índices de resposta da produção química mostraram respostas positivas com relação ao controle, nos tratamentos de interação exclusão de predadores e enriquecimento de nutrientes (*top-down* x *bottom-up*), e no tratamento separado de exclusão de predação. Antes que a ecologia química fosse melhor compreendida, acreditava-se que os consumidores exerciam pouco efeito sobre as estruturas de comunidades de esponjas, por pensarem que os peixes espongívoros forrageavam uma grande variedade de esponjas (PAWLIK et al. 2008). Contudo, hoje sabe-se que a presença de predadores pode influenciar inclusive na produção de metabólitos secundários das esponjas (PAWLIK 2011). A esponja *Ircinia campana* (Lamarck, 1814), por exemplo, é conhecida por produzir altas concentrações do ácido furano sesterpeno tetrônico, substância citotóxica capaz de impedir a predação por peixes (PAWLIK et al. 2002). As evidência de controle *top-down* na estrutura da comunidade de esponjas por predação de peixes é mais apoiado por estudos de conteúdo gástrico e estimativas históricas da população de tartarugas-de-pente, que provavelmente teve um impacto muito maior sobre as abundâncias relativas de esponjas nos recifes do Caribe do passado (PAWLIK et al 2018). Além disso, através de estudos em laboratório e em experimentos manipulativos de campo, foi demonstrado que os peixes que comem esponjas têm suas preferencias baseando-se na produção de defesa química das esponjas (PAWLIK et al 2018).

No caso do nosso estudo observamos um efeito contrário, onde a produção química teve uma resposta positiva em relação ao controle, na ausência de predadores, ou seja, *D. anchorata* produziu compostos químicos mesmo sem predação, não corroborando nossas hipóteses. As esponjas do gênero *Callyspongia* e *Niphates* são importantes componentes nas comunidades dos recifes caribenhos. Porém, mesmo essas esponjas produzindo compostos químicos, elas não possuíam atividade anti-predação, sendo elas palatáveis para peixes generalistas (PAWLIK et al. 1995).

De uma maneira geral, as respostas das esponjas foram mais positivas em relação à produção química, do que com as taxas de crescimento, mesmo não

obtendo resultados significativos. Outros estudos indicaram que algumas esponjas desenvolveram mecanismos de crescimento e defesa, em diferentes situações, mostrando um efeito *trade-off* de alocação de recursos (WALTERS e PAWLIK 2005). A rápida colonização de espécies de esponjas palatáveis em espaços livres dos recifes do Caribe, e nos naufrágios dos arredores da região também foi consistente com as previsões da hipótese de que houve um *trade-off* de alocação de recursos entre as defesas químicas e a reprodução ou o crescimento nos tecidos das esponjas (PAWLIK et al. 2008).

Desmapsamma anchorata é conhecida por ter sucesso no estabelecimento e abundância em recifes e costões rochosos, com alta diversidade de competidores; possivelmente essas estratégias podem ser atribuídas à rápida taxa de crescimento, e rápida capacidade de regeneração (AERTS e van SOEST 1997; AERTS 1998). Como citado anteriormente, essa esponja também é conhecida por produzir uma série de metabólitos secundários de diferentes classes, como os esteróis (QUIJANO et al. 1994), os terpenos (MAHBUB et al. 2014), os ácidos graxos (CARBALLEIRA e MALDONADO 1988; CARBALLEIRA e SHALABI 1994), os aldeídos (CARBALLEIRA e SHALABI 1994), e os alcaloides (COMPAGNONE et al. 1999). Estas características da espécie direcionou a hipótese da existência de um *trade-off* entre a produção de metabólitos secundários e o crescimento (SINGH e THAKUR 2015). Porém, no presente estudo, assim como no estudo realizado por Ferreira (2016) *D. anchorata* não apresentou relação significativa entre produção de metabólitos secundários e crescimento, e não corroborou a Hipótese de Defesa Ótima.

Por outro lado, a "Teoria de Estresse Ambiental" sugere que os estresses ambientais podem reduzir o crescimento, devido ao suprimento de nutrientes inadequado, ou podem causar danos aos organismos, devido às condições adversas (PAUL e PUGLISI 2004). Em contrapartida, essa teoria também sugere a redução da produção química, o que só observamos nos tratamentos com enriquecimento de nutrientes, e não nos outros tratamentos. Esses dados contradizem também a Teoria de Balanço Carbono/Nutriente não podendo ser aceita em nosso estudo.

Sendo assim, mesmo não encontrando respostas significativas entre crescimento e produção, podemos ressaltar que a produção química, nos casos dos bioensaios de exclusão de predação e influencia das forças interativas exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (*top-down* e *bottom-up*), possuem uma resposta positiva com relação ao tratamento controle, diferente dos dados de taxa de

crescimento. Apesar desses resultados não serem significativos, eles podem auxiliar estudos posteriores sobre ecologia de esponjas, e suas possíveis respostas metabólicas a diferentes estresses ambientais. Um número maior de estudos experimentais *in situ*, em maior tempo e aplicado a outras espécies são importantes, para confirmar a utilização dos organismos marinhos como biomonitores de impactos ambientais.

5.7 Conclusão

- Os índices de resposta dos dados de taxa de crescimento foram menores com relação ao tratamento controle, em todos os tratamentos: interação dos fatores exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (*top-down x bottom-up*), enriquecimento de nutrientes, e exclusão de predação.
- Os índices de resposta da produção química foram maiores com relação ao tratamento controle, nos tratamentos interação dos fatores exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (*top-down x bottom-up*), e exclusão de predação.
- Mesmo sendo positivos com relação ao tratamento controle, os dados de produção química não mostraram diferenças significativas nos seus índices de resposta comparados com as taxas de crescimento em todos os tratamentos (interação dos fatores exclusão de predação e enriquecimento de nutrientes (*top-down x bottom-up*), enriquecimento de nutrientes e exclusão de predação).
- Diante de todos os quadros hipotéticos concluímos que não foi observado um *trade-off* entre a produção química e as taxas de crescimento.

CONCLUSÃO GERAL

O presente trabalho mostrou que a esponja *Desmapsamma anchorata* pode ser considerada um modelo biológico para acompanhar mudanças nas comunidades marinhas bênticas. Ressaltamos ainda, que há poucos estudos que relacionam distúrbios ambientais e produção de metabólitos secundários em esponjas no Atlântico Sul.

Podemos observar que na caracterização das comunidades biológicas, não só a quantidade de nutrientes, que é uma fator clássico para a medição de distúrbios ambientais, mas também a produção química da esponja *D. anchorata*, apresentaram respostas diferentes em relação ao índice de impacto dos locais monitorados. O conjunto dos dados obtidos pela técnica espectroscopia RAMAN mostrou que os tecidos da esponja *D. anchorata* variaram em sua composição carotenoídica, em função do ambiente que habita, enquanto que a espécie *Mycale angulosa* não sofreu influência do meio. Esses resultados indicaram que esta técnica pode ser aplicada como ferramenta para discriminação do conteúdo de carotenoides e ácidos graxos, em experimentos de avaliação dos efeitos causados por distúrbios ambientais.

Os experimentos biológicos são instrumentos indispensáveis para compreender as respostas dos organismos de uma forma relativamente simples. Em nosso bioensaio, *in situ*, os tratamentos avaliados (*top-down* e *bottom-up*, e sombreamento) não apresentaram efeito sobre as taxas de crescimento de *D. anchorata*, apenas o fator tempo que obteve resultados positivos. Por outro lado, respostas significativas foram observadas em relação a produção química de *D. anchorata*. Nos diferentes tecidos das esponjas manipuladas encontramos 14 diferentes metabólitos, pertencentes principalmente a classe dos esteróis (n=12). O colesterol foi o produto principal encontrado em todas as amostras. No experimento *top-down x bottom-up*, o tratamento de enriquecimento de nutrientes foi o que apresentou o maior número de diferenças significativas, com o aumento da abundância das substâncias entre os tempos inicial e final. Enquanto, no experimento de sombreamento foi observada uma redução na abundância das áreas picos, com diferença significativa entre os tempos inicial e final.

Os esteróis (3 β ,22*E*)-colesta-5,22-dien-3-ol, (3 β)-colesta-5-en-3-ol, (3 β)-ergosta-5-en-3-ol, (3 β ,24*Z*)-24-propilideno-colesta-5-en-3-ol, (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-

dien-3-ol, (3 β)-colest-5,24-dien-3-ol, (3 β ,22 E)-estigmast-5,22-dien-3-ol), e (3 β ,24 E)-estigmast-5,24(28)-dien-3-ol, ((3 β ,24 Z)-estigmast-5,24(28)-dien-3-ol), colest-5-en-3-ona mostraram diferenças significativas na sua abundância, entre os tempos inicial e final, de diferentes bioensaios de *top-down* x *bottom-up* e de sombreamento. Esses resultados indicaram o uso de produtos naturais (esteróis) como bons biomarcadores de estresses por enriquecimento de nutrientes no meio, exclusão de predadores e pelo sombreamento.

Desmapsamma anchorata também não mostrou diferenças significativas com relação à alocação de seus recursos entre crescimento e produção química. Contudo, a produção química foi positiva com relação ao seu controle.

Um dos objetivos fundamentais na ecologia é entender os mecanismos pelos quais os fatores naturais e antropogênicos podem alterar ou manter interações e estrutura em comunidades bióticas (Littler et al. 2006). Nossos resultados destacaram que ainda há uma má compreensão sobre os impactos da maioria das pressões ambientais, e principalmente, dos efeitos sinérgicos de alguns fatores sobre as esponjas, no Atlântico Sul. Porém, também observamos que os produtos naturais podem servir como excelentes monitores de estresses ambientais. Assim, estudos posteriores com maior variabilidade amostral com diferentes distúrbios poderiam melhorar a qualidade dos resultados e por todos esses motivos encorajamos incluir as esponjas marinhas em monitoramentos ambientais em larga escala.

REFERÊNCIAS

- Abdo DA., Motti CA, Battershill CN, Harvey ES. 2007. Temperature and spatiotemporal variability of salicylhalamide A in the sponge *Haliclona* sp. J. Chem. Ecol. 33:1635–1645.
- Adams SM, Brown AM, Goede RW. 1993. A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field. Trans. Am. Fish. Soc. 122:63–73.
- Aerts LAM. 1998. Sponge/coral interactions in Caribbean reefs: analysis of overgrowth patterns in relation to species identity and cover. Mar Ecol Prog Ser 175:241–249.
- Aerts LAM, van Soest R. 1997. Quantification of sponge / coral interactions in a physically stressed reef community, NE Colombia. Mar. Ecol. Prog. Ser. 148:125–134.
- Agell G, Uriz MJ, Cebrian E, Martí R. 2001. Does stress protein induction by copper modify natural toxicity in sponges? Environ. Toxicol. Chem. 20:2588–2593.
- Alcolado PM. 2007. Reading the code of coral reef sponge community composition and structure for environmental biomonitoring: some experiences from Cuba. Porifera Res. Biodiversity, Innov. Sustain.:3–10.
- Allard P. 1994. Effects of eutrophication and grazing on coral community changes. McGill University, Montreal.
- Baker EK, Harris PT, Kensett-Smith B, Bagster DF, Nobbs DM. 1995. Physical properties of sewage particles in seawater. Mar. Pollut. Bull. 30:247–252.
- Bannister RJ, Battershill CN, de Nys R. 2012. Suspended sediment grain size and mineralogy across the continental shelf of the Great Barrier Reef: Impacts on the physiology of a coral reef sponge. Cont. Shelf Res. 32:86–95.
- Barott K, Smith J, Dinsdale E, Hatay M, Sandin S, Rohwer F. 2009. Hyperspectral and Physiological Analyses of Coral-Algal Interactions. PLoS One 4.
- de Barros IB, Santos ESG Dos, Gomes DED, Volkmer-Ribeiro C, Silva CC, da Veiga Junior VF. 2013. Elemental composition of freshwater sponges *Drulia uruguayensis* and *Drulia cristata* collected in the Tapajós River. X-Ray Spectrom. 42:59–62.
- Batista D, Muricy G, Rocha RC, Miekeley NF. 2014. Marine sponges with contrasting life histories can be complementary biomonitors of heavy metal pollution in

- coastal ecosystems. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21:5785–5794.
- Batista D, Tellini K, Nudi AH, Massone TP, Scofield ADL, Wagener ADLR. 2013. Marine sponges as bioindicators of oil and combustion derived PAH in coastal waters. *Mar. Environ. Res.* 92:234–243.
- Becerro MA, Paul VJ. 2004. Effects of depth and light on secondary metabolites and cyanobacterial symbionts of the sponge *Dysidea granulosa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 280:115–128.
- Becerro MA, Turon X, Uriz MJ. 1995. Natural variation of toxicity in encrusting sponge *Crambe crambe* (Schmidt) in relation to size and environment. *J. Chem. Ecol.* 21:1931–1946.
- Bell JJ. 2008. The functional roles of marine sponges. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 79:341–353.
- Bell JJ, Barnes DKA. 2001. Sponge morphological diversity: A qualitative predictor of species diversity? *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 11:109–121.
- Bell JJ, Barnes DKA. 2000. The distribution and prevalence of sponges in relation to environmental gradients within a temperate sea lough: Inclined cliff surfaces. *Divers. Distrib.* 6:305–323.
- Bell JJ, Burton M, Bullimore B, Newman PB, Lock K. 2006. Morphological monitoring of subtidal sponge assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 311:79–91.
- Bell JJ, Davy SK, Jones T, Taylor MW, Webster NS. 2013. Could some coral reefs become sponge reefs as our climate changes? *Glob. Chang. Biol.* 19:2613–2624.
- Bell JJ, McGrath E, Biggerstaff A, Bates T, Cárdenas CA, Bennett H. 2015. Global conservation status of sponges. *Conserv. Biol.* 29:42–53.
- Bell JJ, Smith D. 2004. Ecology of sponge assemblages (Porifera) in the Wakatobi region, south-east Sulawesi, Indonesia: richness and abundance. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 84:581–591.
- Bellwood DR, Hughes TP, Folke C, Nyström M. 2004. Confronting the coral reef crisis. *Nature* 429:827–833.
- Bergmann W, Feeney RJ. 1950. The isolation of a new thymine pentoside from sponges. *J. Am. Chem. Soc.* 72:2809–2810.
- Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, Munro MHG, Prinsep MR. 2017. Marine Natural Products. *Nat. Prod. Rep.* 34(3): 235-294.
- Bodin N, Burgeot T, Stanisière JY, Bocquené G, Menard D, Minier C, Boutet I, Amat

- A., Cherel Y, Budzinski H. 2004. Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 138:411–427.
- Boening DW. 1999. An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environ. Monit. Assess.* 55:459–470.
- Borja A, Dauer DM. 2008. Assessing the environmental quality status in estuarine and coastal systems: Comparing methodologies and indices. *Ecol. Indic.* 8:331–337.
- Boyd MR, Farina C, Belfiore P, Gagliardi S, Kim JW, Hayakawa Y, Beutler JA, McKee TC, Bowman BJ, Bowman EJ. 2001. Discovery of a novel antitumor benzolactone enamide class that selectively inhibits mammalian vacuolar-type (H⁺)-atpases. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 297:114–120.
- Bruno JF, Petes LE, Harvell CD, Hettinger A. 2003. Nutrient enrichment can increase the severity of coral diseases. *Ecol. Lett.* 6:1056–1061.
- Burford MA, Revill AT, Smith J, Clementson L. 2012. Effect of sewage nutrients on algal production, biomass and pigments in tropical tidal creeks. *Mar. Pollut. Bull.* 64:2671–2680.
- Burkepile D, Hay M. 2009. Nutrient versus herbivore control of macroalgal community development and coral growth on a Caribbean reef. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 389.
- Burlando B, Berti E, Viarengo A. 2006. Effects of seawater pollutants on protein tyrosine phosphorylation in mussel tissues. *Aquat. Toxicol.* 78:79–85.
- Di Camillo CG, Bartolucci I, Cerrano C, Bavestrello G. 2013. Sponge disease in the Adriatic Sea. *Mar. Ecol.* 34:62–71.
- De Caralt S, Uriz M, Wijffels R. 2008. Grazing, differential size-class dynamics and survival of the Mediterranean sponge *Corticium candelabrum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 360:97–106. [accessed 2013 Mar
]. <http://www.intres.com/abstracts/meps/v360/p97-106>
- Carballeira NM, Maldonado ME. 1988. 6-methyl-8-hexadecenoic acid: A novel fatty acid from the marine sponge *Desmapsamma anchorata*. *Lipids* 23:690–693.
- Carballeira NM, Shalabi F. 1994. Unusual lipids in the Caribbean sponges *Amphimedon viridis* and *Desmapsamma anchorata*. *J. Nat. Prod.* 57:1152–1159.
- Carballo J, Naranjo S, García-Gómez J. 1996. Use of marine sponges as stress indicators in marine ecosystems at Algeciras Bay (southern Iberian Peninsula).

- Mar. Ecol. Prog. Ser. 135:109–122.
- Carballo JL, Naranjo S. 2002. Environmental assessment of a large industrial marine complex based on a community of benthic filter-feeders. Mar. Pollut. Bull. 44:605–610.
- Carballo JL, Vega C, Cruz-Barraza JA, Yáñez B, Nava H, Ávila E, Wilson M. 2008. Short- and long-term patterns of sponge diversity on a rocky tropical coast: evidence of large-scale structuring factors. Mar. Ecol. 29:216–236.
- Castro CB, Pires DO. 1999. A bleaching event on a Brazilian coral reef. Brazilian J. Oceanogr. 47:87–90.
- Cebrian E, Uriz M-J, Turon X. 2007. Sponges as biomonitors of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern mediterranean: multispecies comparison. Environ. Toxicol. Chem. 26:2430–2439.
- Cebrian E, Uriz MJ. 2007. Do heavy metals play an active role in sponge cell behaviour in the absence of calcium? Consequences in larval settlement. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 346:60–65.
- Cebrian E, Uriz MJ, Garrabou J, Ballesteros E. 2011. Sponge mass mortalities in a warming mediterranean sea: Are cyanobacteria-harboring species worse off? PLoS One 6.
- Cerrano C, Magnino G, Sarà A, Bavestrello G, Gaino E. 2001. Necrosis in a population of *Petrosia ficiformis* (Porifera, Demospongiae) in relation with environmental stress. Ital. J. Zool. 68:131–136.
- Chanas B, Pawlik JR, Lindel T, Fenical W. 1997. Chemical defense of the Caribbean sponge *Agelas clathrodes* (Schmidt). J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 208:185–196.
- Châtel A, Talarmin H, Hamer B, Schröder HC, Müller WEG, Dorange G. 2011. MAP kinase cell signaling pathway as biomarker of environmental pollution in the sponge *Suberites domuncula*. Ecotoxicology 20:1727–1740.
- Chen J, Li X, Wang S, Chen F, Cao W, Sun C, Zheng L, Wang X. 2017. Screening of lipophilic marine toxins in marine aquaculture environment using liquid chromatography–mass spectrometry. Chemosphere 168:32–40.
- Clarke KR, Warwick RM. 2001. Change in marine communities. An approach to statistical analysis and interpretation. Nat. Environ. Res. Counc.:1–172.
- Coll M, Piroddi C, Albouy C, Ben Rais Lasram F, Cheung WWL, Christensen V, Karpouzi VS, Guilhaumon F, Mouillot D, Paleczny M, et al. 2012. The Mediterranean Sea under siege: Spatial overlap between marine biodiversity,

- cumulative threats and marine reserves. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21:465–480.
- Compagnone RS, Oliveri MC, Piña IC, Marques S, Rangel HR, Dagger F, Suárez AI, Gómez M. 1999. 5-Alkylpyrrole-2-Carboxaldehydes From the Caribbean Sponges *Mycale microsigmatosa* and *Desmapsamma anchorata*. *Nat. Prod. Lett.* 13:203–211.
- Connell SD. 2001. Predatory fish do not always affect the early development of epibiotic assemblages. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 260:1–12.
- Costa OS, Nimmo M, Attrill MJ. 2008. Coastal nutrification in Brazil: A review of the role of nutrient excess on coral reef demise. *J. South Am. Earth Sci.* 25:257–270.
- Costa Jr OS, Nimmo M, Attrill MJ. 2002. Coastal eutrophication in Brazil: The role of nutrient excess on coral reef demise, with special reference to Bahian reefs. In: M.Attrill FKe, editor. *Coral Reefs of Brazil: Synthesis of Current Knowledge*.
- Creed J, Oliveira A. 2007. Uma metodologia e Análise de Impactos Ambientais. In: Creed J, Pires D, Figueiredo M, editors. *Biodiversidade Marinha da Baía de Ilha Grande. Série Biod. Brasília. Ministério do Meio Ambiente.* p. 349–378.
- Creed J, Pires D, Figueiredo M. 2007. *Biodiversidade Marinha da Baía de Ilha Grande. Brasília. Ministério do Meio Ambiente.*
- Cronin G. 2001. Resource allocation in seaweeds and marine invertebrates: chemical defense patterns in relation to defenses theories. In: McClintock J, Baker B, editors. *Marine Chemical Ecology*. CRC Press,. p. 325–345.
- Dattelbaum J, Sieg D, Manieri C, Thomson G, Hill M. 2010. Plasticity of acquired secondary metabolites in *Clathria prolifera* (Demospongia: Poecilosclerida): putative photoprotective role of carotenoids in a temperate intertidal sponge. *Open Mar. Biol. J.* 4:87–95.
- Diaz C, Rützler K. 2001. Sponges: An essential component of Caribbean coral reefs. *Bull. Mar. Sci.* 69:535–546.
- Doty M. 1971. Measurement of water movement in reference to benthic algal growth. *Bot. Mar.* 14:32–35.
- Duckworth A, West L, Vansach T, Stubler A, Hardt M. 2012. Effects of water temperature and pH on growth and metabolite biosynthesis of coral reef sponges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 462:67–77.
- Ellwood M, Kelly M. 2003. Sponge “tree rings”: new indicators of ocean variability? *Water Atmos.* 11:25–27.
- Engel S, Pawlik JR. 2005. Interactions among Florida sponges. II. Mangrove

- habitats. Mar. Ecol. Prog. Ser. 303:145–152.
- Fabricius KE, Golbuu Y, Victor S. 2007. Selective mortality in coastal reef organisms from an acute sedimentation event. Coral Reefs 26:69–69.
- Fan L, Liu M, Simister R, Webster NS, Thomas T. 2013. Marine microbial symbiosis heats up: the phylogenetic and functional response of a sponge holobiont to thermal stress. ISME J. 7:991–1002.
- Fang JKH, Mello-Athayde MA, Schönberg CHL, Kline DI, Hoegh-Guldberg O, Dove S. 2013. Sponge biomass and bioerosion rates increase under ocean warming and acidification. Glob. Chang. Biol. 19:3581–3591.
- Fell PE. 1974. Diapause in the gemmules of the marine sponge *Haliclona oculata*. Biol. Bull. 147:333–351.
- Ferreira C, Rangel C, JP M, Gerhardinger L, Filho A, Godoy E, Junior O, Gasparini J. 2007. Peixes Recifais. In: Creed JC, Pires DO, Figueiredo M, editors. Biodiversidade Marinha da Baía de Ilha Grande. Série Biod. Brasília. Ministério do Meio Ambiente. p. 291–322.
- Ferreira CEL, Floeter SR, Gasparini JL, Ferreira BP, Joyeux JC. 2004. Trophic structure patterns of Brazilian reef shes: a latitudinal comparison. J. Biogeogr.:1093–1106.
- Ferreira YCS. 2016. Variação temporal e espacial de metabólitos secundários da esponja *Desmapsamma anchorata* (Demospongiae). Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- Ferretti C, Vacca S, De Ciucis C, Marengo B, Duckworth AR, Manconi R, Pronzato R, Domenicotti C. 2009. Growth dynamics and bioactivity variation of the Mediterranean demosponges *Agelas oroides* (Agelasida, Agelasidae) and *Petrosia ficiformis* (Haplosclerida, Petrosiidae). Mar. Ecol. 30:327–336.
- Fettweis M, Francken F, Van den Eynde D, Verwaest T, Janssens J, Van Lancker V. 2010. Storm influence on SPM concentrations in a coastal turbidity maximum area with high anthropogenic impact (southern North Sea). Cont. Shelf Res. 30:1417–1427.
- Fillinger L, Janussen D, Lundälv T, Richter C. 2013. Rapid glass sponge expansion after climate-induced antarctic ice shelf collapse. Curr. Biol. 23:1330–1334.
- Fleury BG, Coll JC, Sammarco PW, Tentori E, Duquesne S. 2004. Complementary (secondary) metabolites in an octocoral competing with a scleractinian coral: effects of varying nutrient regimes. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 303:115–131.

[accessed 2013 Feb 27].

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022098103005355>

- Fleury BG, Coll JC, Tentori E, Duquesne S, Figueiredo L. 2000. Effect of nutrient enrichment on the complementary (secondary) metabolite composition of the soft coral *Sarcophyton ehrenbergi* (Cnidaria: Octocorallia: Alcyonaceae) of the Great Barrier Reef. *Mar. Biol.* 136:63–68.
- Fleury BG, Petronilho E, Costa FP da, Pederneiras R, Pinto AC, Herms F; Creed JC. 2008a. Metabolic response to nutrient enrichment in a brazilian coastal benthic community. In: 11 th International Coral Reef Symposium, 2008, Fort Lauderdale. Abstracts - 11th International Coral Reef Symposium. Rockville Pike, Bethesda, MD: FASEB - Office of Scientific Meetings e Conferences,. v. 1. p. 326-326.
- Fleury BG, Lages BG, Barbosa JP, Kaiser CR, Pinto AC. 2008b. New hemiketal steroid from the introduced soft coral *Chromonephthea braziliensis* is a chemical defense against predatory fishes. *J. Chem. Ecol.* 34:987–93. [accessed 2013 Mar 5]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18584259>
- Floeter SR, Krohling W, Gasparini JL, Ferreira CEL, Zalmon IR. 2007. Reef fish community structure on coastal islands of the southeastern Brazil: The influence of exposure and benthic cover. *Environ. Biol. Fishes* 78:147–160.
- Germond A, Kumar V, Ichimura T, Moreau J, Furusawa C, Fujita H, Watanabe TM. 2017. Raman spectroscopy as a tool for ecology and evolution. *J. R. Soc. Interface* 14:20170174.
- Glasby TM, Underwood AJ. 1996. Sampling to differentiate between pulse and press perturbations. *Environ. Monit. Assess.* 42:241–252.
- Gochfeld D, Schloder C, Thacker R. 2007. Sponge community structure and disease prevalence on coral reefs in Bocas del Toro, Panama. *Porifera Res. Biodiversity, Innov. Sustain.*:335–343.
- de Goeij JM, van Oevelen D, Vermeij MJA, Osinga R, Middelburg JJ, de Goeij AFPM, Admiraal W. 2013. Surviving in a marine desert: The sponge loop retains resources within coral reefs. *Science.* 342:108–110.
- González-Díaz P, González-Sansón G, Álvarez SF, Pérez OP. 2010. High spatial variability of coral, sponges and gorgonian assemblages in a well preserved reef. *Rev. Biol. Trop.* 58:621–634.
- Goulart MDC, Callisto M. 2003. Bioindicadores de Qualidade de Água como

- Ferramenta em Estudos de Impacto Ambiental. Rev. da FAPAM 2:9.
- Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M. 1999. Methods of seawater analysis. 3rd ed. Wiley-VCH W, editor.
- Grima J. 2013. Effects of stressors on differential gene expression and secondary metabolites by *Axinella corrugata*. Master of Science. Florida Atlantic University. Boca Raton, Florida. 51p.
- Guenther J, Wright AD, Burns K, De Nys R. 2009. Chemical antifouling defences of sea stars: Effects of the natural products hexadecanoic acid, cholesterol, lathosterol and sitosterol. Mar. Ecol. Prog. Ser. 385:137–149.
- Gundert-Remy U, Dahl SG, Boobis A, Kremers P, Kopp-Schneider A, Oberemm A, Renwick A, Pelkonen O. 2005. Molecular approaches to the identification of biomarkers of exposure and effect - Report of an expert meeting organized by COST Action B15. Toxicol. Lett. 156:227–240.
- Harvell C, Mitchell C, Ward J, Altize S. 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. Science. 296:2158–2163.
- Hay M, Fenical W. 1996. Chemical Ecology and Marine Biodiversity: Insights and Products from the Sea. Oceanography 9:10–20.
- Hay ME. 2009. Marine Chemical Ecology: chemical signals and cues structure marine populations, communities, and ecosystems. Ann. Rev. Mar. Sci. 1:193–212. [accessed 2013 Mar 4].
<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.marine.010908.163708>
- Hill MS. 1998. Spongivory on Caribbean reefs releases corals from competition with sponges. Oecologia 117:143–150.
- Hill MS, Hill AL. 2002. Morphological plasticity in the tropical sponge *Anthosigmella varians*: Responses to predators and wave energy. Biol. Bull. 202:86–95.
- Holmes KE. 2000. Effects of eutrophication on bioerding sponge communities with the description of new West Indian sponges, *Cliona* spp. (Porifera: Hadromerida: Clionidae). Invertebr. Biol. 119(2):125–138.
- Hooper JNA., Van Soest RWM. 2004. Book Review: Systema Porifera. Guide to the classification of sponges. Invertebr. Syst. 18:233–234.
- Hughes TP, Baird AH, Bellwood DR, Card M, Connolly SR, Folke C, Grosberg R, Hoegh-Guldberg O, Jackson JBC, Kleypas J, et al. 2003. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. Science 301:929–933.
- IPCC. 2007. Climate Change 2007: the physical science basis. Cambridge. Solomon

- S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K, Tignor M, Miller H, editors. Cambridge, UK: Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Ivanisevic J, Thomas OP, Pedel L, Pérez N, Ereskovsky A V., Culioli G, Pérez T. 2011. Biochemical trade-offs: Evidence for ecologically linked secondary metabolism of the sponge *oscarella balibalo*. PLoS One 6:11
- Jackson JBC. 2001. Historical Overfishing and the Recent Collapse of Coastal Ecosystems. Science. 293:629–637.
- Jara V, Miyamoto J, da Gama B, Molis M, Wahl M, Pereira R. 2006. Limited evidence of interactive disturbance and nutrient effects on the diversity of macrobenthic assemblages. Mar. Ecol. Prog. Ser. 308:37–48.
- Kanazawa A. 2001. Sterols in marine invertebrates. Fish. Sci. 67:997–1007.
- Karabanov EB, Prokopenko AA, Williams DF, Khursevich GK. 2000. A new record of Holocene climate change from the bottom sediments of Lake Baikal. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol. 156:211–224.
- Karban R, Baldwin I. 1997. Induced responses to herbivory. Chicago: University of Chicago Press.
- Karentz D. 2001. Chemical defenses of marine organisms against solar radiation exposure: UV-absorbing mycosporine-like amino acids and scytonemin. In: McClintock J, Baker BJ, editors. Marine Chemical Ecology. CRC Press. Boca Raton, FL. p. 481–520.
- Kelmo F, Bell JJ, Attrill MJ. 2013. Tolerance of sponge assemblages to temperature anomalies: Resilience and proliferation of sponges following the 1997-8 El-Niño Southern Oscillation. PLoS One 8.
- Khotimchenko S. 1998. Fatty acids of brown algae from the Russian Far East. Phytochemistry 49:2363–2369.
- Knapp ISS, Williams GJ, Carballo JL, Cruz-Barraza JA, Gardner JPA, Bell JJ. 2013. Restriction of sponges to an atoll lagoon as a result of reduced environmental quality. Mar. Pollut. Bull. 66:209–220.
- Koopmans M, Wijffels RH. 2008. Seasonal growth rate of the sponge *Haliclona oculata* (Demospongiae: Haplosclerida). Mar. Biotechnol. 10:502–510.
- Korpinen S, Jormalainen V, Honkanen T. 2007. Bottom-up and cascading top-down control of macroalgae along a depth gradient. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 343:52–63.
- Krebs HC. 1988. Chemical ecology of marine organisms: an overview. Toxicon

26:113.

- Krug PJ. 2006. Defense of benthic invertebrates against surface colonization by larvae: a chemical arms race. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 42:1–53.
- Lafferty KD, Porter JW, Ford SE. 2004. Are diseases increasing in the Ocean? *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35:31–54.
- Lages BG, Fleury BG, Creed JC. 2015. A review of the ecological role of chemical defenses in facilitating biological invasion by marine benthic organisms. In: *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 46. Elsevier B.V. p. 1–26.
- Lages BG, Fleury BG, Ferreira CEL, Pereira RC. 2006. Chemical defense of an exotic coral as invasion strategy. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 328:127–135. [accessed 2013 Mar 5]. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022098105003205>
- Lages BG, Fleury BG, Hovell AMC, Rezende CM, Pinto AC, Creed JC. 2012. Proximity to competitors changes secondary metabolites of non-indigenous cup corals, *Tubastraea* spp., in the southwest Atlantic. *Mar. Biol.* 159:1551–1559.
- Lages BG, Fleury BG, Menegola C, Creed JC. 2011. Change in tropical rocky shore communities due to an alien coral invasion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 438:85–96. [accessed 2013 Mar 5]. <http://www.int-res.com/abstracts/meps/v438/p85-96/>
- Leal MC, Puga J, Serôdio J, Gomes NCM, Calado R. 2012. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades - where and what are we bioprospecting? *PLoS One* 7.
- Lemloh M-L, Fromont J, Brümmer F, Usher KM. 2009. Diversity and abundance of photosynthetic sponges in temperate Western Australia. *BMC Ecol.* 9:4.
- Leong W, Pawlik JR. 2010. Evidence of a resource trade-off between growth and chemical defenses among Caribbean coral reef sponges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 406:71–78.
- Lesser MP. 2006. Benthic-pelagic coupling on coral reefs: Feeding and growth of Caribbean sponges. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 328:277–288.
- Lesser MP, Slattery M. 2013. Ecology of caribbean sponges: Are top-down or bottom-up processes more important? *PLoS One* 8:1–9.
- Li X, Hu Y, Sanchez-Molina I, Zhou Y, Yu F, Haque SA, Wu W, Hua J, Tian H, Robertson N. 2015. Insight into quinoxaline containing D– π –A dyes for dye-sensitized solar cells with cobalt and iodine based electrolytes: the effect of π -bridge on the HOMO energy level and photovoltaic performance. *J. Mater. Chem. A* 3:21733–21743.

- Linton DM, Warner GF. 2003. Biological indicators in the Caribbean coastal zone and their role in integrated coastal management. *Ocean Coast. Manag.* 46:261–276.
- Littler MM, Littler DS, Brooks BL, Lapointe BE. 2006. Nutrient manipulation methods for coral reef studies: A critical review and experimental field data. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 336:242–253.
- Loh T-L, McMurray SE, Henkel TP, Vicente J, Pawlik JR. 2015. Indirect effects of overfishing on Caribbean reefs: sponges overgrow reef-building corals. *PeerJ* 3:e901.
- Loh TL, Pawlik JR. 2014. Chemical defenses and resource trade-offs structure sponge communities on Caribbean coral reefs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111:4151–6.
- Loh T, McMurray S, Henkel T, Vicente J, Pawlik J. 2015. Indirect effects of overfishing on Caribbean reefs: sponges overgrow reef-building corals. *PeerJ*. 3 (art. e901).
- Loh TL, Pawlik JR. 2009. Bitten down to size: Fish predation determines growth form of the Caribbean coral reef sponge *Mycale laevis*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 374:45–50.
- Loh TL, Pawlik JR. 2012a. Specificity of larval settlement of the caribbean orange icing sponge, *Mycale laevis*. *Invertebr. Biol.* 131:155–164. [accessed 2013 Mar 5]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7410.2012.00271.x>
- Loh TL, Pawlik JR. 2012b. Friend or foe? No evidence that association with the sponge *Mycale laevis* provides a benefit to corals of the genus *Montastraea*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 465:111–117.
- Lohrer AM, Hewitt JE, Thrush SF. 2006. Assessing far-field effects of terrigenous sediment loading in the coastal marine environment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 315:13–18.
- López-Legentil S, Song B, McMurray SE, Pawlik JR. 2008. Bleaching and stress in coral reef ecosystems: HSP70 expression by the giant barrel sponge *Xestospongia muta*. *Mol. Ecol.* 17:1840–1849.
- Lotze HK, Coll M, Dunne JA. 2011. Historical changes in marine resources, food-web structure and ecosystem functioning in the Adriatic Sea, Mediterranean. *Ecosystems* 14:198–222.
- Lourenço-Amorim C, Neres-Lima V, Moulton TP, Sasada-Sato CY, Oliveira-Cunha P, Zandonà E. 2014. Control of periphyton standing crop in an Atlantic Forest

- stream: The relative roles of nutrients, grazers and predators. *Freshw. Biol.* 59:2365–2373.
- Magurran A. 1988. *Ecological diversity and its measurements*. Princeton. Princeton, New Jersey.
- Mahaut ML, Basuyaux O, Baudinière E, Chataignier C, Pain J, Caplat C. 2013. The porifera *Hymeniacidon perlevis* (Montagu, 1818) as a bioindicator for water quality monitoring. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20:2984–2992.
- Maia L, Fleury B, Lages B, Creed J, Oliveira L. 2014. New strategies for Identifying natural products of ecological significance from corals: nondestructive Raman spectroscopy analysis. In: *Studies in natural products chemistry*. Atta-ur-Ra. p. 313–349.
- Maldonado M, Giraud K, Carmona C. 2008. Effects of sediment on the survival of asexually produced sponge recruits. *Mar. Biol.* 154:631–641.
- Maldonado M, Young CM. 1996. Effects of physical factors on larval behavior, settlement and recruitment of four tropical demosponges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 138:169–180.
- Mantelatto MC, Fleury BG, Menegola C, Creed JC. 2013. Cost – benefit of different methods for monitoring invasive corals on tropical rocky reefs in the southwest Atlantic. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 449:129–134.
- Marinho PR, Simas NK, Kuster RM, Duarte RS, Fracalanza SEL, Ferreira DF, Romanos MTV, Muricy G, Giambiagi-Demarval M, Laport MS. 2012. Antibacterial activity and cytotoxicity analysis of halistanol trisulphate from marine sponge *Petromica citrina*. *J. Antimicrob. Chemother.* 67:2396–2400.
- Marty MJ, Blum JE, Pawlik JR. 2016. No accounting for taste: Palatability of variably defended Caribbean sponge species is unrelated to predator abundance. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 485:57–64.
- McLean EL. 2006. *Ecology of the encrusting sponge Desmpasamma anchorata*. Master in Biological Oceanography. University of Puerto Rico. 81 p.
- Meesters E, Knijn I, Willemsen P, Pennartz R, Roebbers G, van Soest R. 1991. Sub-rubble communities of Curaçao and Bonaire coral reefs. *Coral Reefs* 10:189–197.
- Mehbub MF, Lei J, Franco C, Zhang W. 2014. Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: Trends and opportunities for discovery of bioactives. *Mar. Drugs* 12:4539–4577.

- Mendonça-Neto JP, Da Gama BAP. 2009. The native *Palythoa caribaeorum* overgrows on invasive species in the intertidal zone. *Coral Reefs* 28:497.
- Menge BA. 1995. Indirect Effects in Marine Rocky Intertidal Interaction Webs : Patterns and Importance. *Ecol. Monogr.* 65:21–74.
- Menge BA. 2000. Top-down and bottom-up community regulation in marine rocky intertidal habitats. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 250:257–289.
- de Mestre C, Maher W, Roberts D, Broad A, Krikowa F, Davis AR. 2012. Sponges as sentinels: Patterns of spatial and intra-individual variation in trace metal concentration. *Mar. Pollut. Bull.* 64:80–89.
- Miller LP, Gaylord B. 2007. Barriers to flow: The effects of experimental cage structures on water velocities in high-energy subtidal and intertidal environments. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 344:215–228.
- Mukhopadhyay I, Saxena DK, Chowdhuri DK. 2003. Hazardous effects of effluent from the chrome plating industry: 70 kDa heat shock protein expression as a marker of cellular damage in transgenic *Drosophila melanogaster* (hsp70-lacZ). *Environ. Health Perspect.* 111:1926–1932.
- Muniz P, Venturini N, Pires-Vanin AMS, Tommasi LR, Borja Á. 2005. Testing the applicability of a Marine Biotic Index (AMBI) to assessing the ecological quality of soft-bottom benthic communities, in the South America Atlantic region. *Mar. Pollut. Bull.* 50:624–637.
- Muricy G. 1989. Sponges as pollution-biomonitorers at Arraial do Cabo, southeastern Brazil. *Rev. Bras. Biol.* 49:347–354.
- Muricy G, Hajdu E, Custodio M, Klautau M, Russo C, Peixoto S. 1991. Sponge distribution at Arraial do Cabo, SE Brazil. *Proc. VII Symp. Coast. Ocean Manag.* 2:1183–1196.
- Nava H, Carballo JL. 2013. Environmental factors shaping boring sponge assemblages at Mexican Pacific coral reefs. *Mar. Ecol.* 34:269–279.
- Nava H, Ramírez-Herrera MT. 2012. Land use changes and impact on coral communities along the central Pacific coast of Mexico. *Environ. Earth Sci.* 65:1095–1104.
- Nixon SW. 1995. Coastal marine eutrophication a definition causes and reasons for concern. *Ophelia* 41:199–219.
- Nugues MM, Roberts CM. 2003. Partial mortality in massive reef corals as an indicator of sediment stress on coral reefs. *Mar. Pollut. Bull.* 46:314–323.

- Núñez-Farfán J, Fornoni J, Valverde PL. 2007. The Evolution of Resistance and Tolerance to Herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 38:541–566.
- Page M, West L, Northcote P, Battershill C, Kelly M. 2005. Spatial and temporal variability of cytotoxic metabolites in populations of the New Zealand sponge *Mycale hentscheli*. *J. Chem. Ecol.* 31:1161–1174.
- Pan K, Lee OO, Qian PY, Wang WX. 2011. Sponges and sediments as monitoring tools of metal contamination in the eastern coast of the Red Sea, Saudi Arabia. *Mar. Pollut. Bull.* 62:1140–1146.
- Pandolfi JM, Bradbury RH, Sala E, Hughes TP, Bjorndal KA, Cooke RG, McArdle D, McClenachan L, Newman MJH, Paredes G, et al. 2003. Global trajectories of the long-term decline of coral reef ecosystems. *Science* 301:955–958.
- Pantile R, Webster N. 2011. Strict thermal threshold identified by quantitative PCR in the sponge *Rhopaloeides odorabile*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 431:97–105.
- Patel B, Balani M, Patel S. 1985. Sponge “sentinel” of heavy metal. *Sci. Total Environment* 41:143–152.
- Paul VJ, Puglisi MP. 2004. Chemical mediation of interactions among marine organisms. *Nat. Prod. Rep.* 21:189–209.
- Paula A, Creed JC. 2005. Spatial distribution and abundance of nonindigenous coral genus *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) around Ilha Grande, Brazil. *Braz. J. Biol.* 65:661–673.
- Pawlik JR. 2011. The chemical ecology of sponges on Caribbean reefs: Natural products shape natural systems. *Bioscience* 61:888–898.
- Pawlik JR, Burkepile DE, Thurber RV. 2016. A vicious circle? Altered carbon and nutrient cycling may explain the low resilience of Caribbean coral reefs. *Bioscience* 66:470–476.
- Pawlik JR, Chanas B, Toonen RJ, Fenical W. 1995. Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish . I . Chemical deterrence. *Mar Ecol Prog Ser* 127:183–194.
- Pawlik JR, Fall GMC, Zea S. 2002. Does the odor from sponges of the genus *Ircinia* protect them from fish predators ? *J. Chem. Ecol.* 28:1103–1115.
- Pawlik JR, Henkel TP, McMurray SE, López-Legentil S, Loh TL, Rohde S. 2008. Patterns of sponge recruitment and growth on a shipwreck corroborate chemical defense resource trade-off. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 368:137–143.
- Pawlik JR, Loh T-L, McMurray SE. 2018. A review of bottom-up vs. top-down control

- of sponges on Caribbean fore-reefs: what's old, what's new, and future directions. *PeerJ* 6:e4343.
- Pawlik JR, Loh TL, McMurray SE, Finelli CM. 2013. Sponge communities on Caribbean coral reefs are structured by factors that are top-down, not bottom-up. *PLoS One* 8.
- Pawlik JR, McMurray SE, Henkel TP. 2007. Abiotic factors control sponge ecology in Florida mangroves. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 339:93–98.
- Perdicaris S, Vlachogianni T, Valavanidis A. 2013. Bioactive Natural Substances from Marine Sponges: New Developments and Prospects for Future Pharmaceuticals. *Nat Prod Chem Res* 1:1–8.
- Perea-Blázquez A, Davy SK, Bell JJ. 2012. Nutrient utilisation by shallow water temperate sponges in New Zealand. *Hydrobiologia* 687:237–250.
- Perez T, Vacelet J, Rebouillon P. 2004. In situ comparative study of several Mediterranean sponges as potential biomonitors for heavy metals. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova* 68:517–525.
- Peterson BJ, Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18:293–320.
- Petras D, Koester I, Da Silva R, Stephens BM, Haas AF, Nelson CE, Kelly LW, Aluwihare LI, Dorrestein PC. 2017. High-Resolution Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Enables Large Scale Molecular Characterization of Dissolved Organic Matter. *Front. Mar. Sci.* 4.
- Petronilho E. 2008. Avaliação do uso de produtos naturais marinhos como biomonitores de poluição orgânica. Centro Federal de Educação Tecnológica de Química.
- Petronilho E, Costa F, Pederneiras R, Pinto A, Herms F, Creed J, Fleury B. 2004. Produtos naturais de organismos marinhos: bioindicadores de poluição orgânica? In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. p. 2004.
- Pineda MC, Duckworth A, Webster N. 2015. Appearance matters: sedimentation effects on different sponge morphologies. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom*:1–12.
- Powell A, Smith DJ, Hepburn LJ, Jones T, Berman J, Jompa J, Bell JJ. 2014. Reduced diversity and high sponge abundance on a sedimented indo-pacific reef system: Implications for future changes in environmental quality. *PLoS One* 9.
- Powell AL, Hepburn LJ, Smith DJ, Bell JJ. 2010. Patterns of Sponge Abundance

- Across a Gradient of Habitat Quality in the Wakatobi Marine National Park, Indonesia. *Open Mar. Biol. J.* 4:31–38.
- Price TD, Qvarnstrom A, Irwin DE. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 270:1433–1440.
- Przeslawski R, Ah Yong S, Byrne M, Wörheide G, Hutchings P. 2008. Beyond corals and fish: The effects of climate change on noncoral benthic invertebrates of tropical reefs. *Glob. Chang. Biol.* 14:2773–2795.
- Putz A, Kloeppel A, Pfannkuchen M, Briimmer F, Proksch P. 2009. Depth-related alkaloid variation in mediterranean *Aplysina* sponges. *Zeitschrift für Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* 64:279–287.
- Quemeneur M, Marty Y. 1992. Sewage influence in a macrotidal estuary: Fatty acid and sterol distributions. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 34:347–363.
- Quijano L, Cruz F, Navarrete I, Gómez P, Rios T. 1994. Alkyl glycerol monoethers in the marine sponge *Desmapsamma anchorata*. *Lipids* 29:731–734.
- Rainbow PS. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 31:183–192.
- Ramakrishna A, Ravishankar GA. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal. Behav.* 6:1720–1731.
- Randall JE, Hartman WD. 1968. Sponge-feeding fishes of the West Indies. *Mar. Biol.* 1:216–225.
- Rao JV, Kavitha P, Reddy NC, Rao TG. 2006. *Petrosia testudinaria* as a biomarker for metal contamination at Gulf of Mannar, southeast coast of India. *Chemosphere* 65:634–638.
- Reiswig HM. 1971. In situ pumping activities of tropical Demospongiae. *Mar. Biol.* 9:38–50.
- Rhoades D, Cates R. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Recent Adv. Phytochem.* 10:168–213.
- Ribeiro SM. 2008. Ecologia química de esponjas marinhas: multifuncionalidade, variação congênica, intrapopulacional, latitudinal e estágios de vida.
- Ribeiro SM, Omena EP, Muricy G. 2003. Macrofauna associated to *Mycale microsigmatosa* (Porifera, Demospongiae) in Rio de Janeiro State, SE Brazil. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 57:951–959.
- Risk MJ, Lapointe BE, Sherwood OA, Bedford BJ. 2009. The use of $\delta^{15}\text{N}$ in assessing sewage stress on coral reefs. *Mar. Pollut. Bull.* 58:793–802.

- Roberts D, Davis A, Cummins S. 2006. Experimental manipulation of shade, silt, nutrients and salinity on the temperate reef sponge *Cymbastela concentrica*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 307:143–154.
- Rogers C. 1990. Responses of coral reefs and reef organisms to sedimentation . Mar. Ecol. Prog. Ser. 62:185–202.
- Rohde S, Nietzer S, Schupp PJ. 2015. Prevalence and Mechanisms of Dynamic Chemical Defenses in Tropical Sponges. PLoS One 10:e0132236.
- Rose CS, Risk MJ. 1985. Increase in *Cliona delitrix* Infestation of *Montastrea cavernosa* Heads on an Organically Polluted Portion of the Grand Cayman Fringing Reef. Mar. Ecol. 6:345–363.
- Ross K, Cooper N, Bidwell JR, Elder J. 2002. Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: A comparison between populations from contaminated and reference sites. Mar. Pollut. Bull. 44:671–679.
- Rossi G, Montori S, Cerrano C, Calcinai B. 2015. The coral killing sponge *Chalinula nematifera* (Porifera: Haplosclerida) along the eastern coast of Sulawesi Island (Indonesia). Ital. J. Zool. 82:143–148.
- Rützler K. 2004. Sponges on coral reefs : a community shaped by competitive cooperation. Boll. Mus. Inst. Biol. Univ. Genova 68:85–148.
- Santos MFB Dos. 2013. Predação, eutrofização e respostas metabólicas em comunidades incrustantes de substratos artificiais na Baía da Ilha Grande, RJ. Mestrado. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 109 p.
- Santos TCCS, Câmara JBD. 2002. GEO BRASIL 2002 - Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil. Edições IB. Brasília.
- Sara M, Vacelet J. 1973. Ecologie des Démosponges. In: Grassé P, editor. Traité de Zoologie. V. 3 (Part. p. 463–575.
- Scanes P, Philip N. 1995. Environmental impact of deepwater sewage discharge off Sydney. Mar. Pollut. Bull. 31:343–346.
- Schils T. 2012. Episodic Eruptions of Volcanic Ash Trigger a Reversible Cascade of Nuisance Species Outbreaks in Pristine Coral Habitats. PLoS One 7:1–8.
- Schönberg C, Ortiz J. 2008. Is sponge bioerosion increasing? Proc. 11th Int. Coral Reef Symp.:520–523.
- Schroeter SC, Dixon JD, Kastendiek J, Smith RO. 1993. Detecting the ecological effects of environmental impacts: a case study of kelp forest invertebrates. Ecol. Appl. 3:331–350.

- Schupp P, Eder C, Paul V, Proksch P. 1999. Distribution of secondary metabolites in the sponge *Oceanapia* sp. and its ecological implications. *Mar. Biol.* 135:573–580.
- Sebens KP. 1987. The ecology of indeterminate growth in animals. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 371-407.
- Selye H. 1973. The Evolution of the Stress Concept: The originator of the concept traces its development from the discovery in 1936 of the alarm reaction to modern therapeutic applications of syntoxic and catatoxic hormones. *Am. Sci.* 61:692–699.
- Seo Y, Rho J-R, Cho KW, Sim CJ, Shin J. 1997. Isolation of Epidioxysteroids from a Sponge of the Genus *Tethya*. *Bull. Korean Chem. Soc.* 18:631–635.
- Silva AG, Fortunato HFM, Lôbo-Hajdu G, Fleury BG. 2017. Response of native marine sponges to invasive *Tubastraea* corals: a case study. *Mar. Biol.* 164: 78
- Silva AG. 2014. Vivendo com o inimigo: competição entre os corais invasores *Tubastraea* spp. e a esponja *Desmapsamma anchorata* na Baía de Ilha Grande, RJ. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- Silva JF, Gomes PB, Santana EC, Silva JM, Lima EP, Santos AMM, Pérez CD. 2015. Growth of the tropical zoanthid *Palythoa caribaeorum* (Cnidaria: Anthozoa) on reefs in Northeastern Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 87:985–996.
- Simister R, Taylor MW, Tsai P, Webster N. 2012. Sponge-Microbe Associations Survive High Nutrients and Temperatures. *PLoS One* 7:21–23.
- Simonassi JC, Hennemann MC, Talgatti D, Marques Jr. AN. 2010. Nutrient variations and coastal water quality of Santa Catarina Island, Brazil. *Biotemas* 23:211–223.
- Singh A, Thakur NL. 2015. Significance of investigating allelopathic interactions of marine organisms in the discovery and development of cytotoxic compounds. *Chem. Biol. Interact.*:1–13.
- Sinko J, Rajchard J, Balounova Z, Fikotova L. 2012. Biologically active substances from water invertebrates : a review. *Vet. Med. (Praha)*. 57:177–184.
- Smith A K, Ajani PA, Roberts DE. 1999. Spatial and temporal variation in fish assemblages exposed to sewage and implications for management. *Mar. Environ. Res.* 47:241–260.
- Smith JE, Smith CM, Hunter CL. 2001. An experimental analysis of the effects of herbivory and nutrient enrichment on benthic community dynamics on a Hawaiian reef. *Coral Reefs* 19:332–342.

- Smith LC, Hildemann WH. 1986. Allograft rejection, autograft fusion and inflammatory responses to injury in *Callyspongia diffusa* (Porifera; Demospongia). Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 226:445–64.
- Smyrniotopoulos V, Rae M, Soldatou S, et al. 2015. Sulfated Steroid–Amino Acid Conjugates from the Irish Marine Sponge *Polymastia boletiformis*. Mar Drugs. 2015 Apr; 13(4): 1632–1646.
- Stochaj WR, Dunlap WC, Shick JM. 1994. Two new UV-absorbing mycosporine-like amino acids from the sea anemone *Anthopleura elegantissima* and the effects of zooxanthellae and spectral irradiance on chemical composition and content. Mar. Biol. 118:149–156.
- Strauss SY, Irwin RE, Lambrix VM. 2004. Optimal defence theory and flower petal colour predict variation in the secondary chemistry of wild radish. J. Ecol. 92:132–141.
- Stuhldreier I. 2012. In situ simulation of eutrophication and overfishing in a coral reef of Koh Phangan, Thailand - Effects on algae growth and activity. University of Bremen.
- Suchanek TH, Green DJ. 1981. Interspecific competition between *Palythoa caribaeorum* and other sessile invertebrates on St. Croix Reefs, U.S. Virgin. Proceedings of the Fourth International Coral Reef Symposium, Manila. Vol. 2.
- Sudatti DB. 2010. Influência de fatores abióticos e bióticos na química defensiva da macroalga marinha *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Ceramiales: Rhodophyta). Doutorado em Biologia Marinha. Universidade Federal Fluminense. 143 p.
- Syvitski JPM, Vörösmarty CJ, Kettner AJ, Green P. 2005. Impact of humans on the flux of terrestrial sediment to the global coastal ocean. Science 308:376–380.
- Thacker RW. 2005. Impacts of Shading on Sponge-Cyanobacteria Symbioses: A Comparison between Host-Specific and Generalist Associations. Integr. Comp. Biol. 45:369–376.
- Thinesh T, Meenatchi R, Pasiyappazham R, Jose PA, Selvan M, Kiran GS, Selvin J. 2017. Correction: Short-term in situ shading effectively mitigates linear progression of coral-killing sponge *Terpios hoshinota* (PLoS ONE (2017) 12:8 (e0182365) DOI: 10.1371/journal.pone.0182365). PLoS One 12:11–12.
- Thoms C, Schupp PJ. 2007. Chemical defense strategies in sponges : a review. :627–637.
- Tompkins-MacDonald GJ, Leys SP. 2008. Glass sponges arrest pumping in

- response to sediment: implications for the physiology of the hexactinellid conduction system. *Mar. Biol.* 154:973–984.
- Trussell GC, Lesser MP, Patterson MR, Genovese SJ. 2006. Depth-specific differences in growth of the reef sponge *Callyspongia vaginalis*: Role of bottom-up effects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 323:149–158.
- Turon X, Galera J, Uriz MJ. 1997. Clearance rates and aquiferous systems in two sponges with contrasting life-history strategies. *J. Exp. Zool.* 278:22–36.
- Turon X, Tarjuelo I, Uriz MJ. 1998. Growth dynamics and mortality of the encrusting sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) in contrasting habitats: Correlation with population structure and investment in defence. *Funct. Ecol.* 12:631–639.
- Turque AS, Batista D, Silveira CB, Cardoso AM, Vieira RP, Moraes FC, Clementino MM, Albano RM, Paranhos R, Martins OB, et al. 2010. Environmental shaping of sponge associated archaeal communities. *PLoS One* 5.
- Underwood AJ. 1989. The analysis of stress in natural populations. *Biol. J. Linn. Soc.* 37:51–78.
- Underwood AJ. 1994. On Beyond BACI : Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances. *Ecol. Appl.* 4:3–15.
- Uriz MJ, Becerro MA, Tur JM, Turon X. 1996. Location of toxicity within the Mediterranean sponge *Crambe crambe* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Mar. Biol.* 124:583–590.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64:178–189.
- Vermeij MJA, van Moorselaar I, Engelhard S, Hörnlein C, Vonk SM, Visser PM. 2010. The effects of nutrient enrichment and herbivore abundance on the ability of turf algae to overgrow coral in the Caribbean. *PLoS One* 5:1–8.
- Vilanova E, Mayer-Pinto M, Curbelo-Fernandez MP, Silva SHG. 2004. The impact of a nuclear power plant discharge on the sponge community of a tropical bay (SE Brazil). *Bolletino di Mus. e Ist. di Biol. dell'Universita di Genova* 68:647–654.
- Walters KD, Pawlik JR. 2005. Is there a trade-off between wound-healing and chemical defenses among Caribbean reef sponges? *Integr. Comp. Biol.* 45:352–358.
- Warburton FE. 1966. The Behavior of Sponge Larvae. *Ecology* 47:672–674.
- Ward-Paige CA, Risk MJ, Sherwood OA, Jaap WC. 2005. Clionid sponge surveys on

- the Florida Reef Tract suggest land-based nutrient inputs. *Mar. Pollut. Bull.* 51:570–579.
- Webster N, Pantile R, Botté E, Abdo D, Andreakis N, Whalan S. 2013. A complex life cycle in a warming planet: Gene expression in thermally stressed sponges. *Mol. Ecol.* 22:1854–1868.
- Webster NS. 2007. Sponge disease: A global threat? *Environ. Microbiol.* 9:1363–1375.
- Webster NS, Cobb RE, Negri AP. 2008. Temperature thresholds for bacterial symbiosis with a sponge. *ISME J.* 2:830–842.
- Wells P. 1999. Biomonitoring the health of coastal marine ecosystems— the roles and challenges of microscale toxicity tests. *Mar. Pollut. Bull.* 39:1–12.
- Whalan S, Ettinger-Epstein P, De Nys R. 2008. The effect of temperature on larval pre-settlement duration and metamorphosis for the sponge, *Rhopaloeides odorabile*. *Coral Reefs* 27:783–786.
- Whitfield J. 2001. Vital signs. *Nature* 411:989–990.
- Wiens M, Korzhev M, Krasko A, Thakur NL, Perović-Ottstadt S, Breter HJ, Ushijima H, Diehl-Seifert B, Müllert IM, Müller WEG. 2005. Innate immune defense of the sponge *Suberites domuncula* against bacteria involves a MyD88-dependent signaling pathway: Induction of a perforin-like molecule. *J. Biol. Chem.* 280:27949–27959.
- Wilkinson CR, Cheshire AC. 1990. Comparisons of sponge populations across the Barrier Reefs of Australia and Belize: evidence for higher productivity in the Caribbean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 67:285–294.
- Wilkinson CR, Trott LA. 1985. Light as a factor determining the distribution of sponges across the Central great barrier reef. In: *Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress*. Vol. 5. Tahiti. p. 125–130.
- Wittenberg M, Hunte W. 1992. Effects of eutrophication and sedimentation on juvenile corals. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 112:131–138.
- Wolanski E, Richmond RH, Mccook L. 2004. A model of the effects of land-based, human activities on the health of coral reefs in the Great Barrier Reef and in Fouha Bay, Guam, Micronesia. *J. Mar. Syst.* 46:133–144.
- Worm B, Reusch TBH, Lotze HK. 2000. *In situ* Nutrient Enrichment: Methods for Marine Benthic Ecology. *Int Rev Hydrobiol.* 85: 359-375, Issue 2-3.

- Wright S, Jeffrey S. 1987. Fucoxanthin pigment markers of marine phytoplankton analysed by HPLC and HPTLC. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 38:259–266.
- Wulff J. 2001. Assessing and monitoring coral reef sponges: why and how? *Bull. Mar. Sci.* 69:831–846.
- Wulff J. 2005. Trade-offs in resistance to competitors and predators, and their effects on the diversity of tropical marine sponges. *J. of Animal Ecology.* 74: 313-321.
- Wulff J. 2012. Ecological Interactions and the Distribution, Abundance, and Diversity of Sponges. *Advances in Marine Biology.* 61: 273-344.
- Wulff J. 2016. Sponge contributions to the Geology and Biology of Reefs: Past, Present, and Future. *Coral Reefs at the Crossroads, Coral Reefs of the World.* 6:103–126.
- Wulff JL. 1997. Mutualisms among species of coral reef sponges. *Ecology* 78:146–159.
- Yalçın FN. 2007. Biological activities of the marine sponge *Axinella*. *Hacettepe Univ. Eczac. Fak. Derg.* 27:47–60.
- Zangerl AR, Bazzaz FA. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. In: *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution and Genetics* (eds. Fritz RS, Simms EL), pp. 363–391. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Zhang G, Liu D, Wu H, Chen L, Han Q. 2012. Heavy metal contamination in the marine organisms in Yantai coast, northern Yellow Sea of China. *Ecotoxicology* 21:1726–1733.

APÊNDICE A- Principais táxons/grupos funcionais ocupadores de espaço nos 13 locais monitorados na Baía da Ilha Grande. Os dados são médios em porcentagem (%) ($\pm$ erro padrão).

Táxon/Grupo funcional	Ponta Fina	Lage Branca	Tanguá	Bica	Vila Velha	Bonfim	Anil	Machado	Biscaia	TEBIG	Conceição	Ilha do Abraão	Abraãozinho
Algae													
Algas formadoras de tapete	52.5 (3.9)	83.8 (3.9)	63.8 (8.5)	61.4 (11.6)	40.8 (13.3)	64.8 (9.5)	65.8 (5)	71.4 (7.4)	44.2 (17)	38.0 (9.7)	20.9 (11)	8.8 (4.2)	29.93 (10.6)
Alga calcarea incrustante	0.2 (0.2)	-	-	-	-	-	0.4 (0.4)	0.2 (0.2)	-	1.2 (1.2)	-	4.8 (2.8)	-
<i>Amphiroasp.</i>	1.2 (0.8)	-	-	-	-	-	-	0.4 (0.2)	-	-	8.6 (5.6)	3.5 (2.3)	9 (7.3)
<i>Asparagopsis taxiformis</i>(Delile)	13.9 (5.7)	8.6 (1.2)	2.0 (1.8)	30.8 (13.6)	6.4 (4.3)	4.6 (1.9)	1.6 (1.6)	5.6 (1.9)	9.8 (3.8)	-	-	-	-
Trevisan de Saint-Léon, 1845													
<i>Gymnogongrus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)
<i>Hypnea sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	-	-
<i>Laurencia sp.</i>	-	-	-	-	-	12.8 (5.7)	1.2 (0.8)	3.8 (3.8)	-	-	-	-	1 (0.7)
<i>Dictyota sp.</i>	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	0.2 (0.2)	0.6 (0.6)	-	-	-	-
<i>Hincksia sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6 (1.6)	-	-	-
<i>Padya sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	0.6 (0.6)	-	-	-	-	-
<i>Sargassum muticum</i> (Yendo) Fensholt, 1955	1.2 (1.2)	0.4 (0.4)	-	-	-	-	-	2.6 (2.6)	-	-	-	-	-
<i>Caulerpa peltate</i> J.V.Lamouroux, 1809	-	-	-	-	-	-	1.6 (1)	-	-	-	-	-	-

<i>Caulerpa</i> sp.	-	3.8 (2.6)	-	0.4 (0.2)	-	9.4 (3.7)	-	8.8 (3.2)	0.4 (0.2)	-	-	-	-
<i>Caulerpa taxifolia</i> (M.Vahl) C.Agardh, 1817	-	-	-	-	-	0.4 (0.4)	12.4 (6.7)	-	-	-	-	-	-
Porifera													
<i>Amphimedon viridis</i> Duchassaing e Michelotti, 1864	0.6 (0.4)	2.2 (1.6)	-	-	1.9 (1)	1.4 (0.7)	-	-	-	-	0.4 (0.4)	-	-
<i>Aplysilla</i> <i>rosea</i> (Barrois, 1876)	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	0.2 (0.2)
<i>Chondrilla nucula</i> Schmidt, 1862	-	-	-	-	-	0.4 (0.4)	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	-
<i>Cliona</i> sp.	-	-	-	-	-	-	0.6 (0.6)	-	-	-	-	-	-
<i>Desmapsamma</i> <i>anchorata</i> (Carter, 1882)	1.8 (1.1)	0.4 (0.4)	3.4 (0.9)	1.0 (0.7)	7.5 (2.0)	2.4 (1.5)	3.4 (1.6)	4.4 (2.3)	-	1.6 (1.6)	6,6 (3.7)	0.2 (0.18)	0.87 (0.8)
<i>Dysidea janiae</i> (Duchassaing e Michelotti, 1864)	-	-	-	-	-	-	-	0.6 (0.4)	-	-	-	-	-
<i>Haliclona manglaris</i> Alcolado, 1984	0.2 (0.2)	-	-	-	-	-	-	1.0 (0.7)	-	-	-	-	-
<i>Hymeniacidon</i> <i>heliophila</i> (Wilson, 1911)	-	0.6 (0.4)	1.0 (0.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Iotrochota arenosa</i> Rützler, Maldonado, Piantonie Riesgo, 2007	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	11.4 (3.6)	-	0.2 (0.2)	7.4 (4)	-	3.2 (1)	0.8 (0.8)

<i>Zoanthus sociatus</i> (Ellis, 1768)	-	-	2.4 (2.2)	0.4 (0.4)	0.4 (0.4)	1.8 (1.1)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mussismilia hispida</i> (Verrill, 1901)	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	1.0 (0.6)	-	-	-	-	-	1.2 (1.2)
<i>Tubastraea coccinea</i> Lesson, 1829	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	-
<i>Tubastraea tagusensis</i> Wells, 1982	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4 (0.4)	-	1.5 (0.7)	-
Bryozoa													
<i>Bugula</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6 (0.4)	-	-
<i>Schizoporella</i> sp.	-	-	0.2 (0.2)	-	0.2 (0.2)	-	0.2 (0.2)	-	-	0.2 (0.2)	-	-	0.4 (0.2)
Ascidacea													
<i>Ascidacea</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	0.2 (0.2)
<i>Phallusia nigra</i> Savigny, 1816	-	-	-	-	-	-	0.2 (0.2)	-	-	-	0.7 (0.4)	0.5 (0.2)	0.6 (0.4)

Fonte: A autora, 2018.

APÊNDICE B – Assembleia de peixes encontradas nos 13 locais monitorados na Baía de Ilha Grande. Dados em porcentagem (%).

Espécies	Lage Branca	Ponta Fina	Tanguá	Bica	Vila Velha	Bonfim	Anil	Machado	Biscaia	TEBIG	Conceição	Ilha do Abraão	Abrãozinho
<i>Anisotremus virginicus</i> (Linnaeus, 1758)	-	3,7	--	--	4,2	--	8,6	0,6	2,3	--	--	6,3	3,1
<i>Anisotremus surinamensis</i>	17,1	0,5	--	3,0	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Haemulon album</i> Cuvier, 1830	--	--	--	--	--	28,6	53,4	--	32,1	--	62,0	30,1	34,9
<i>Haemulon parra</i> (Desmarest, 1823)	1,4	--	--	3,0	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Haemulon aurolineatum</i> Cuvier, 1830	-	60,7	-	-	-	-	-	10,3	-	21,4	1-	-	-
<i>Haemulon steindachneri</i> (Jordan e Gilbert, 1882)	5,7	2,6	75,3	63,0	35,2	-	-	29,3	23,7	-	-	-	19,5
<i>Stegastes fuscus</i> (Cuvier, 1830)	-	3,1	3,2	-	7,0	-	10,3	-	-	-	16,0	6,6	28,7
<i>Abudefduf saxatilis</i> (Linnaeus, 1758)	14,3	18,3	11,0	23,7	28,2	-	-	2,9	5,3	64,3	-	34,9	3,1
<i>Coryphopterus glaucofraenum</i> Gill, 1863	-	-	1,3	-	-	-	1,7	-	2,3	-	-	-	0,5
<i>Elacatinus fígaro</i> Sazima, Moura e Rosa, 1997	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
<i>Sphoeroides</i> sp.	7,1	0,5	2,6	2,2	1,4	28,6	3,4	2,3	7,6	7,1	6,0	0,7	1,0
<i>Diplodus argenteus</i> (Valenciennes, 1830)	52,9	-	0,6	-	-	-	19,0	50,6	24,4	3,6	-	12,5	2,1
<i>Synodus synodus</i> (Linnaeus, 1758)	-	1,0	-	1,5	-	-	1,7	-	-	-	2,0	-	0,5
<i>Sparisoma axillare</i> (Steindachner, 1878)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
<i>Chaetodon striatus</i> Linnaeus, 1758	-	5,2	1,3	1,5	5,6	-	-	-	-	-	-	6,6	2,1
<i>Hippocampus reidi</i> Ginsburg, 1933	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,1
<i>Parablennius spilicornis</i> (Cuvier, 1829)	-	1,0	1,3	-	-	-	-	0,6	-	-	4,0	0,4	1,0
<i>Scorpaena</i> sp.	1,4	-	-	0,7	1,4	-	-	-	-	-	-	-	0,5
<i>Labrisomus</i> sp.	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-
<i>Acanthurus chirurgus</i> (Bloch, 1787)	-	-	0,6	-	1,4	-	-	-	0,8	-	-	0,4	-
<i>Gymnothorax moringa</i> (Cuvier, 1829)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
<i>Chilomycterus spinosus spinosus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	-	14,3	1,7	0,6	0,8	3,6	-	-	-
<i>Stephanolepis hispidus</i> (Linnaeus, 1766)	-	0,5	2,6	1,5	-	14,3	-	2,9	0,8	-	-	-	-

<i>Pempheris schomburgkii</i> Müller e Troschel, 1848	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mugil curema</i> Valenciennes, 1836	-	-	-	-	12,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fistularia tabacaria</i> Linnaeus, 1758	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mycteroperca</i> sp.	-	-	-	-	1,4	14,3	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: A autora, 2018.

APÊNDICE C - Análise por espectroscopia Raman *in situ* da *D. anchorata* coletada em 13 locais na Baía de Ilha Grande, RJ. Tentativa de assinalamento das bandas Raman (cm^{-1}) com linha de excitação em 1064nm.

Ponta Fina	Lage Branca	Tanguá	Bica	Vila Velha	Bonfim	Anil	Machado	Biscaia	TEBIG	Conceição	Ilha do Abraão	Abraãozinho	Tentativa de assinalamento
1658	1658m	1656f	1660m	1658	1658m	1656m	1658f	1658i	1658m	1658m	1656m	1656f	$\nu\text{C}=\text{C}$
-	-	-	-	-	-	-	-		1530i	-	-	-	$\nu\text{C}=\text{C}$
-	1523i	1521i	1525m	1521	1521i	1521m	1521i	1521i	-	1523m	1523i	1521i	$\nu\text{C}=\text{C}$
1516	-	-	-	-	1508i	1511m	-	-	1510i	-	-		$\nu\text{C}=\text{C}$
1448	1448m	1450m	1452m	1448	1455i	1455m	1450f	1450i	1452m	1450m	1452m	1454m	$\delta(\text{CH}_2/\text{CH}_3)$
1299	1301f	1303f	1299f	1303	1303m	1303f	1301f	1301f	1303f	1301f	1303f	1301m	$\delta(\text{CH}_2)$
1270	1267f	1270f	1270f	1270	1270m	1269f	1269f	1270f	1270f	1270f	1269m	1269m	$\delta(=\text{CH})$
1157	1159i	1159i	1159m	1159	1159i	1158m	1157i	1159m	1157i	1159i	1157i	1157i	$\delta(\text{C}-\text{C})$
1087	1085f	1085f	1085m	1087	1087m	1087m	-	1085m	1087m	1085m	1087m	1087f	$\nu(\text{C}-\text{C})$
1008	1007f	1007m	1007f	1005	1008i	1007m	1007m	1005m	1006i	1007m	1007m	1007m	$\delta(\text{C}-\text{CH}_3)$
-	790f	-	790i	-	785m	789i	-	-	790m	-	789m	790m	-
-	-	-	706i	-	706m	706i	-	-	706m	-	706m	706m	-
-	-	-	690i	-	690m	690i	-	-	690m	-	690m	690m	-

Legenda: Intensidades relativas: (i) intensa, (m) média, (f) fraca.

Fonte: A autora, 2018.

APÊNDICE D- Análise da espécie por espectroscopia Raman *in situ* da *M. angulosa* coletada em locais não impactados na Baía de Ilha Grande, RJ. Tentativa de assinalamento das bandas Raman (cm⁻¹) com linha de excitação em 1064nm..

Ponta Fina	Lage Branca	Tanguá	Bica	Vila Velha	Bonfim	Anil	Machado	Biscaia	TEBIG	Conceição	Ilha do Abraão	Abraãozinho	Tentativa de assinalamento
1656i	1658f	1656f	1660m	1654f	1660f	1658f	1656m	1658f	1658f	1658f	1658f	1660f	vC=C
1531i	1531i	1529m	1529i	1529i	1531i	1529i	1531i	1529i	1529m	1529i	1529i	1529m	vC=C
1516i	-	1510m	1510i	1510i	1512i	1510i	1510i	1510i	1510m	1510i	1510i	1512m	vC=C
1469i	1471m	1469m	1773i	1473i	1473m	1473i	1459m	1473m	1473m	1473i	1473i	1461m	δ(CH ₂)
1452i	1448m	1450m	1450i	1450o	1450m	1450m	1450o	1450o	1450o	1448m	1450m	-	δ(CH ₂ /CH ₃)
1303m	-	1305f	1305f	-	-	1304f	1299f	1304f	-	1304f	1304f	1301f	δ(CH ₂)
1277m	1272f	1274f	1275f	1275f	1275f	1275f	1272f	1275f	-	1275f	1275f	1276f	δ(=CH)
1155i	1159m	1155m	1155i	1155i	1157i	1157i	1155i	1157i	1155i	1155i	1157i	1157i	δ(C-C)
1086m	-	1089f	1085m	1089f	1085f	1085f	1080f	1080o	-	1082f	1085f	1080f	v(C-C)
1005i	1006f	1005m	1007i	1007i	1007m	1007m	1007m	1007m	1007m	1007m	1007m	1005f	δ(C-CH ₃)

Legenda: Intensidades relativas: (i) intensa, (m) média, (f) fraca, (o) ombro

Fonte: A autora, 2018.