



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Yollanda Carolina da Silva Ferreira

**Variação temporal e espacial de metabólitos secundários da
esponja *Desmapsamma anchorata* (Demospongiae).**

Rio de Janeiro

2016

Yollanda Carolina da Silva Ferreira

**Variação temporal e espacial de metabólitos secundários da esponja
Desmapsamma anchorata (Demospongiae).**

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

Orientador: Prof^a. Dra. Beatriz Grosso Fleury

Coorientadora: Prof^a. Dra. Gisele Lôbo Hajdu

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / CTC-A

F383 Ferreira, Yollanda Carolina da Silva.
Variação temporal e espacial de metabólitos secundários da esponja *Desmapsamma anchorata* (Demospongiae) / Yollanda Carolina da Silva Ferreira. – 2016.
124 f. : Il.
Orientador: Beatriz Grosso Fleury
Coorientadora: Gisele Lôbo Hajdu
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
1. Esponja – Grande, Ilha (RJ) - Teses. 2. Biologia marinha – Grande, Ilha (RJ) – Teses. I. Fleury, Beatriz Grosso. III. Hadju, Gisele Lôbo. IV. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. V. Título.
CDU 593.4(815.3)

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

Assinatura

Data

Yollanda Carolina da Silva Ferreira

**Variação temporal e espacial de metabólitos secundários da esponja
Desmapsamma anchorata (Demospongiae).**

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

Aprovado em 07 de março de 2016.

Orientadora: Prof^a. Dra. Beatriz Grosso Fleury

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ.

Coorientadora: Prof^a. Dra. Gisele Lôbo Hajdu

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Joel Christopher Creed

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Prof^a. Dra. Lenize Fernandes Maia

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dra. Andrea de Oliveira Ribeiro Junqueira

Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família pelo amor, carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por iluminar meus caminhos nessa longa e caminhada.

À minha mãe Ivone, pelo imenso amor e carinho e, que mesmo não estando mais presente em minha vida, me ensinou a lutar pelos meus objetivos. Aonde quer que estejas, te amo e muito obrigada!

Ao meu pai Paulo, por toda força, sabedoria, compreensão e dedicação. E por todo seu esforço para me proporcionar uma educação de qualidade.

Ao meu irmão Leandro, pelo companheirismo e amizade.

Ao meu marido Vanderson, pelo amor, companheirismo, amizade e dedicação. Pela compreensão, por todas as vezes que tive de viajar a trabalho de campo e não pude ficar com você.

Aos meus familiares, avós, tias, tios, primos, primas e cunhadas.

Às minhas, orientadora Prof^ª. Dr^ª. Beatriz Fleury e coorientadora Prof^ª. Dr^ª Gisele Hajdu pela confiança, compreensão, pelos ensinamentos passados científicos e pessoais, e pela oportunidade de trabalhar no Laboratório de Ecologia Marinha Química.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório que muito contribuíram para a realização deste trabalho, me ajudando nos trabalhos de campo e atividades de laboratórios, Amanda, Juliana, Larissa Marques, Humberto, Fernanda, Beatriz, Ana, Tamires, Anais, Victor e Marcelo.

Aos amigos/ irmãos que a UERJ me deu, Amanda, Juliana, Larissa Marques, Fernanda, Fabiana, Mariana, Humberto, Giselle, Larissa Akiko, Thaise, Fabrine, Amanda Ferreira, Luciana e Leonardo. Obrigada por todos os momentos que compartilhamos juntos, pelos aniversários surpresas, pelos almoços, pelos amigos ocultos, pelas festinhas, pelas conversas e conselhos trocados, também pelas colaborações nos trabalhos.

Aos meus amigos de disciplina pela amizade e companheirismo durante as aulas e atividades do curso.

Ao Prof. Dr. Joel Creed por aceitar ser da banca e revisor desta dissertação, pelo carinho e atenção concedidos.

Às Prof^{as}. Dr^{as} Lenize Maia, Andrea Junqueira e Neusa Arruda por aceitarem a participar da banca desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Vinicius Neres pela enorme ajuda com a elaboração do desenho amostral dos experimentos e com análises estatísticas. E por aceitar a participar da banca desta dissertação.

À Prof^a. Dr^a. Mônica Marques da Central Analítica Fernanda Coutinho (IQ/UERJ) pela ajuda com as análises de CG/EM/EMAR e esclarecimentos de dúvidas sobre química.

À Prof^a Dr^a. Joana Santos (IQ/UERJ) por ceder seu laboratório para realização das extrações orgânicas.

Ao Técnico Eduardo Fonseca (Biologia Vegetal/UERJ) por toda paciência e ensinamento da técnica de derivatização de ácidos graxos e pelos esclarecimentos de dúvidas sobre extratos orgânicos.

Ao Prof. Dr. Simon Garden (IQ/UFRJ) pela preparação do diazometano para derivatização das amostras.

Ao marinho Caio pelo transporte durante os trabalhos de campo.

Aos professores e alunos do PPGEE pelos ensinamentos e troca de conhecimentos.

À Soninha e Verusca da secretaria do PPGEE por auxiliar com questões administrativas e burocráticas.

À UERJ e fomento a pesquisa CNPq, FAPERJ e CAPES, pela estrutura física de laboratórios e apoios financeiros.

Ao SISBIO pela concessão da licença n ° 43811 que permitiu a coleta das amostras para esta pesquisa.

Obrigada a todas as pessoas que entraram em minha vida e que de algum modo me ajudaram a conquistar essa vitória.

OBRIGADA!!!!

*“Não me canso de ti saudar, ó mar,
Tua beleza me ilumina, em ti maravilhoso mar,
Todo o teu mundo me fascina.”*

Autor desconhecido.

RESUMO

FERREIRA, Yollanda Carolina da Silva. Variação temporal e espacial de metabólitos secundários da esponja *Desmapsamma anchorata* (Demospongiae). 2016. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Desmapsamma anchorata é uma espécie amplamente distribuída no litoral do Brasil, podendo ser encontrada em diversos tipos de ambientes. A espécie é muito abundante nos costões rochosos da Baía de Ilha Grande. Apresenta como característica marcante o crescimento excessivo, sendo considerada uma das principais esponjas epibiontes sobre outros organismos. É uma grande competidora por espaço, sendo capaz de danificar os tecidos dos corais invasores *Tubastraea* spp. Também produz uma diversidade de metabólitos secundários, principalmente ácidos graxos e esteróis. No entanto, a concentração de metabólitos secundários pode variar em diferentes partes de um organismo, entre diferentes indivíduos de uma mesma população e entre populações diferentes de uma mesma espécie. O presente tem como objetivo: 1) Avaliar a ocorrência de variação na produção de metabólitos secundários intra e interpopulacional de *D. anchorata*; 2) Avaliar a ocorrência de variação temporal na produção de metabólitos secundários e a existência de *trade-off* entre crescimento e produção metabólica na *D. anchorata*. O esterol colest-5-en-3 β -ol (colesterol) e o éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico foram as substâncias majoritárias nos extratos brutos de *D. anchorata*. A concentração de alcaloides variou entre as regiões basal e distal das colônias de *D. anchorata* do Abraãozinho e Lagoa Azul, porém as amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata* não apresentaram variações metabólicas significativas. *D. anchorata* apresentou menor variação metabólica em 52 dias após a implantação do experimento, porém esse resultado não foi significativo. *D. anchorata* não apresentou relação significativa entre produção metabólica e crescimento. Desta forma, os resultados aqui apresentados, não corroboram as Hipóteses de Defesa Ótima e de Balanço entre Crescimento e Diferenciação.

Palavras-chaves: *Desmapsamma anchorata*. Produtos naturais. Variação metabólica. *Trade-off*.

ABSTRACT

FERREIRA, Yollanda Carolina da Silva. "Temporal and spatial variation of secondary metabolites sponge *Desmapsamma anchorata* (Demospongiae)". 2016. 125f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Desmapsamma anchorata is a widely distributed species on the coast of Brazil, can be found in various types of environments. The species is abundant on the rocky shores of Ilha Grande Bay. Shows how striking feature overgrowth, and is considered one of the main epibionts sponges on other organisms. It's a great competitor for space, being able to damage the tissues of coral invaders *Tubastraea* spp. it also produces a variety of secondary metabolites, especially fatty acids and sterols. However, the concentration of secondary metabolites may vary in different parts of an organism, between different individuals from the same population and among populations of the same species. The objectives of this study is: 1) Evaluate the occurrence of variation in the production of intra- and inter secondary metabolites *D. anchorata*; 2) Evaluate the occurrence of temporal variation in the production of secondary metabolites and the existence of trade-off between growth and metabolic production in *D. anchorata*. The cholest-5-en-3 β -ol sterol (cholesterol) and methyl ester of 5,9-hexacosadienoico acid was the major compounds in crude extracts *D. anchorata*. The concentration of alkaloids ranged between regions basal and distal of the colonies of *D. anchorata* the Abraãozinho and Lagoa Azul, but the intra and inter samples *D. anchorata* no significant metabolic changes. *D. anchorata* showed lower metabolic changes in 52 days after implantation of the experiment, but this result was not significant. *D. anchorata* no significant relationship between metabolic production and growth. Thus, the results presented here do not support the hypotheses of Optimal Defense and Balance between growth and differentiation.

Keywords: *Desmapsamma anchorata*. Natural products. Metabolic variation. Trade-off.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Número de substâncias novas isoladas de invertebrados marinhos entre 1985 e 2008	18
Figura 2 -	Distribuição de novas substâncias isoladas de organismos marinhos entre 1985 e 2008	19
Figura 3 -	Representação esquemática das principais vias do metabolismo secundário.....	20
Figura 4 -	Padrões de alocação de recursos previstos para os diferentes gradientes de fatores bióticos e abióticos	22
Figura 5 -	Esponja marinha <i>Desmapsamma anchorata</i>	25
Figura 6 -	Esponja marinha <i>Desmapsamma anchorata</i> crescendo sobre o cnidário <i>Palythoa caribaeorum</i>	26
Figura 7 -	Esponja marinha <i>Desmapsamma anchorata</i> crescendo sobre os corais invasores <i>Tubastraea</i> spp	27
Figura 8 -	Esponjas marinhas <i>Desmapsamma anchorata</i> e <i>Amphimedon viridis</i> crescendo sobrepostas	27
Figura 9 -	Mapa dos locais de estudo, Baía da Ilha Grande, RJ.....	30
Figura 10 -	Metodologia de transecção	33
Figura 11 -	Esquema de coleta das amostras intracoloniais de <i>Desmapsamma anchorata</i>	35
Figura 12 -	Esquema de extração dos compostos orgânicos.....	36
Figura 13 -	Cromatogramas dos esteróis e ésteres metílicos dos ácidos graxos mais abundantes encontrados nas amostras intra e interpopulacional de <i>D. anchorata</i> , em diferentes locais da BIG	41
Figura 14 -	Estrutura molecular do colest-5-en-3 β -ol (colesterol)	46
Figura 15 -	Estrutura molecular do (22E,24S)-24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (stigmasterol)	46
Figura 16 -	Estrutura molecular do o (22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassicasterol)	46
Figura 17 -	Estrutura molecular do Estigmast-5-en-3-ol (β -sitosterol)	47
Figura 18 -	Estrutura molecular do 5,9-hexacosadienoico	47
Figura 19 -	Estrutura molecular do hexadecanoico	46

Figura 20-	Abundância média (%) e erro padrão (\pm) das classes metabólicas nas amostras intra e interpopulacionais de <i>D. anchorata</i> por locais de estudo.....	48
Figura 21-	Índices de Variações Fisiológicas (alcaloides: ácidos graxos e alcalóides: esteróis) nas amostras intra e interpopulacionais de <i>D. anchorata</i> por locais de estudo.....	49
Figura 22-	Matriz gráfica de Correlação de Pearson entre as classes de substâncias nas amostras intra e interpopulacional de <i>D. anchorata</i>	50
Figura 23-	Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção das diferentes classes de substâncias encontradas para variação intracolônial de <i>D. anchorata</i>	52
Figura 24-	Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para variação interpopulacional de <i>D. anchorata</i>	53
Figura 25 -	Transplante de parte de colônias da esponja <i>D. anchorata</i> para placa de acrílico sobre bloco de concreto em Abraãozinho, BIG.....	61
Figura 26-	Quantificação da área da esponja <i>D. anchorata</i> transplantada para placa de acrílico	62
Figura 27-	Imagens coloridas das diferentes regiões de crescimento da <i>Desmapsamma anchorata</i> , em placas de acrílico, após 187 dias (T4), final do experimento.....	63
Figura 28-	Relação do volume inicial com as taxas médias de crescimento das esponjas <i>D. anchorata</i> transplantadas.....	65
Figura 29-	Gráficos de crescimento exponencial das colônias de <i>D. anchorata</i> transplantadas e monitoradas ao longo de 187 dias, nas placas de acrílico, em Abraãozinho (BIG).....	66
Figura 30-	Cromatogramas com as abundâncias de colesterol e do éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico nas amostras temporais de <i>D. anchorata</i>	70
Figura 31-	Abundância média (%) e erro padrão (\pm) das classes metabólicas nas colônias de <i>D. anchorata</i> em cada tempo de monitoramento do experimento.....	73
Figura 32-	Índice de Variação Fisiológica (alcaloides: ácidos graxos e alcaloides: esteróis) nas colônias de <i>D. anchorata</i> em cada tempo de monitoramento do experimento.....	74
Figura 33-	Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção das classes de substâncias encontradas para nas colônias <i>D. anchorata</i>	75

Figura 34-	Matriz gráfica de Correlação de Pearson entre as classes de substâncias nas amostras temporais de <i>D. anchorata</i>	76
Figura 35-	Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para variação entre colônias de <i>Desmpasamma anchorata</i>	77
Figura 36-	Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para variação temporal de <i>Desmpasamma anchorata</i>	78
Figura 37-	Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para as diferentes classes de crescimento de <i>D. anchorata</i>	79
Figura 38-	Matriz gráfica de Correlação de Pearson entre os Índices de Variações Fisiológicas (IVF).....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Locais de estudo e coordenadas geográficas na Baía da Ilha Grande	29
Tabela 2 - Lista de táxons encontrados, porcentagem média de cobertura e erro padrão (\pm) para os cinco locais de estudo, na Baía de Ilha grande, RJ.....	39
Tabela 3 - Número de substâncias e abundância média das diferentes classes de substâncias encontradas nas amostras intra e interpopulacionais de <i>D. anchorata</i>	40
Tabela 4 - Importância dos componentes (eixos-PC) na Análise de componentes principais (PCA) das amostras intrapopulacionais de <i>D. anchorata</i>	51
Tabela 5 - Taxas de crescimento de <i>Desmaspasamma anchorata</i> (vol.vol ⁻¹ .dia ⁻¹).....	64
Tabela 6 - Abundância média (%) e o número de substâncias das diferentes classes de substâncias identificadas nas colônias da esponja marinha <i>D. anchorata</i> , transplantadas para placas de acrílico, nos costões de Abraãozinho, BIG.....	69
Tabela 7 - Importância dos componentes (eixos – PC) na Análise de componentes principais (PCA) das amostras temporais de <i>D. anchorata</i>	74

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
	Eponjas marinhas	17
	Produtos naturais marinhos	18
	Eponja <i>Desmapsamma anchorata</i> Carter, 1882	24
	ÁREA DE ESTUDO	29
1	VARIAÇÃO METABÓLICA INTRA E INTERPOPULACIONAL DA ESPONJA MARINHA <i>Desmapsamma anchorata</i> NA BAÍA DE ILHA GRANDE, RJ.	31
1.1	Introdução	31
1.2	Objetivos	32
1.3	Hipóteses	33
1.4	Materiais e métodos	33
1.4.1	<u>Caracterização das comunidades bentônicas</u>	33
1.4.2	<u>Coleta das amostras</u>	34
1.4.3	<u>Extração dos metabólitos de <i>D. anchorata</i></u>	35
1.4.4	<u>Análise em CG/EM/EMAR</u>	36
1.4.5	<u>Tratamento dos dados</u>	37
1.5	Resultados	38
1.5.1	<u>Comunidades bentônicas</u>	38
1.5.2	<u>Variação intra e interpopulacional de metabólitos secundários</u>	39
1.6	Discussão	53
1.7	Conclusão	58
2	VARIAÇÃO METABÓLICA TEMPORAL DA ESPONJA MARINHA <i>Desmapsamma anchorata</i>	59
2.1	Introdução	59
2.2	Objetivos	60
2.3	Hipóteses	60
2.4	Materiais e métodos	61

2.4.1	<u>Crescimento</u>	61
2.4.2	<u>Extração dos metabólitos de <i>D. anchorata</i></u>	64
2.5	Resultados	64
2.5.1	<u>Crescimento</u>	64
2.5.2	<u>Variação metabólica</u>	68
2.6	Discussão	81
2.6.1	<u>Crescimento</u>	81
2.6.2	<u>Variação metabólica</u>	82
2.7	Conclusão	84
	CONCLUSÕES GERAIS	85
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXO A: Lista das substâncias identificadas por classes, com seus códigos, tempos de retenção e abundâncias médias (%) das amostras intra e interpopulacionais de <i>D. anchorata</i>	102
	ANEXO B: Abundância (%) das substâncias por classes nas amostras intra e interpopulacional de <i>D. anchorata</i>	104
	ANEXO C: Índice de Variação Fisiológica entre alcaloides: ácidos graxos e alcaloides: esteróis das amostras intra e interpopulacional de <i>D. anchorata</i>	111
	ANEXO D: Lista das substâncias identificadas nas amostras temporais de <i>D. anchorata</i> por classes de produtos naturais, com seus códigos, tempos de retenção e abundâncias médias (%)	112
	ANEXO E: Abundância (%) das substâncias por classes nas amostras temporais de <i>D. anchorata</i>	115
	ANEXO F: Índice de Variação Fisiológica entre alcaloides: ácidos graxos e alcaloides: esteróis nas amostras temporais de <i>D. anchorata</i>	124

INTRODUÇÃO GERAL

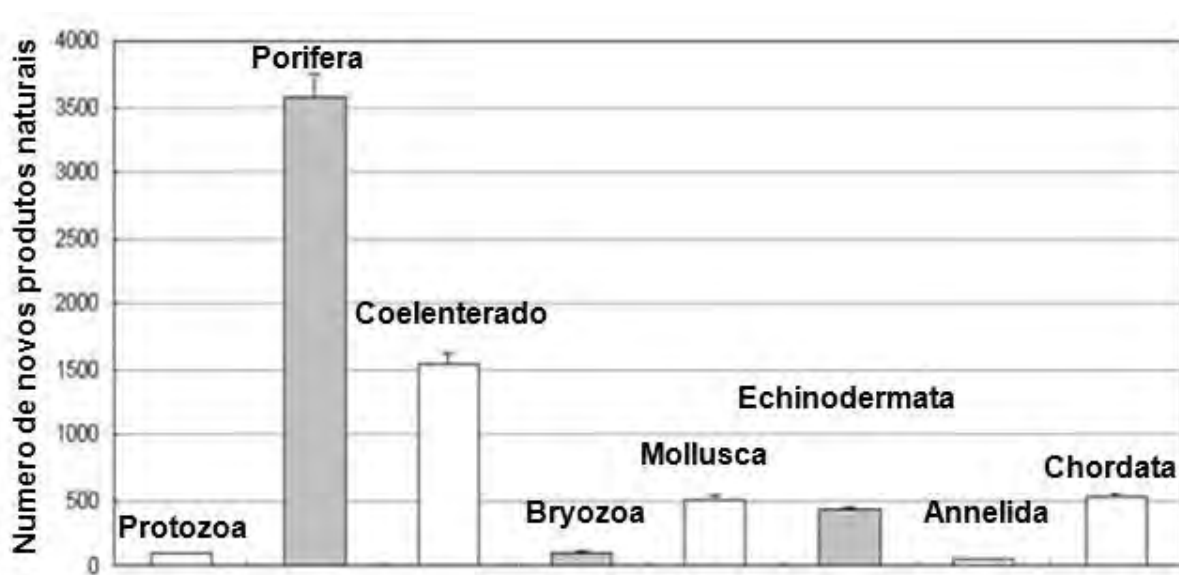
Esponjas marinhas

Os poríferos ou esponjas marinhas são animais multicelulares mais antigos, com registro fóssil no período Pré-Cambriano (LI *et al.* 1998, HOOPER *et al.*, 2002; HAJDU *et al.*, 2011). Podem ser encontrados em ambientes marinhos (maioria das espécies) e também em água doce (HADDAD e ROCHA, 2006). As esponjas retiram seu alimento (organismos multicelulares, bactérias, detritos orgânicos e nutrientes dissolvidos) da água por filtração, para isto criam um sistema de circulação no interior do seu corpo, fazendo com que a água entre pelos poros (condição que deu origem ao nome do táxon), circule por canais e câmaras internas, saindo por um ou mais ósculos (HOOPER *et al.* 2002; HADDAD e ROCHA, 2006). Elas se reproduzem sexuadamente através da formação de gametas, podendo a fecundação ocorrer externamente ao corpo ou internamente (espécies vivíparas), com formação de larvas. Também é muito comum a reprodução assexuada, por meio de brotamento, fissão e fragmentação, isto é, as células do fragmento dissociado da esponja-mãe, são capazes de se reorganizarem e formar uma esponja completa (HADDAD e ROCHA, 2006).

As esponjas são divididas em quatro classes: Calcarea, composta por esponjas com espículas de carbonato de cálcio; Demospongiae, esponjas com espículas silicosas, combinadas ou não com esqueleto fibroso (compreende cerca de 85% das espécies); a classe Hexactinellida, esponjas com espículas silicosas de simetria triaxônia (forma cúbica) e a classe Homoscleromorpha, esponjas com espículas silicosas tetraxônicas (BRUSCA e BRUSCA, 1990; HOOPER *et al.* 2002; HAJDU *et al.*, 2011; GAZAVE *et al.*, 2012; VAN SOEST *et al.*, 2016).

Nas últimas décadas, as esponjas têm atraído a atenção por serem fontes de produtos biologicamente ativos. Os poríferos destacam-se por serem o grupo mais estudado quimicamente (Fig. 1), e o principal responsável pela produção de grande parte dos produtos naturais descritos para o ambiente marinho (CRONIN, 2001; MC CLINCTOCK e BAKER, 2001; HU *et al.*, 2011; LEAL *et al.*, 2012; MEHBUB *et al.*, 2014).

Figura 1 - Número de substâncias isoladas de invertebrados marinhos entre 1985 e 2008.

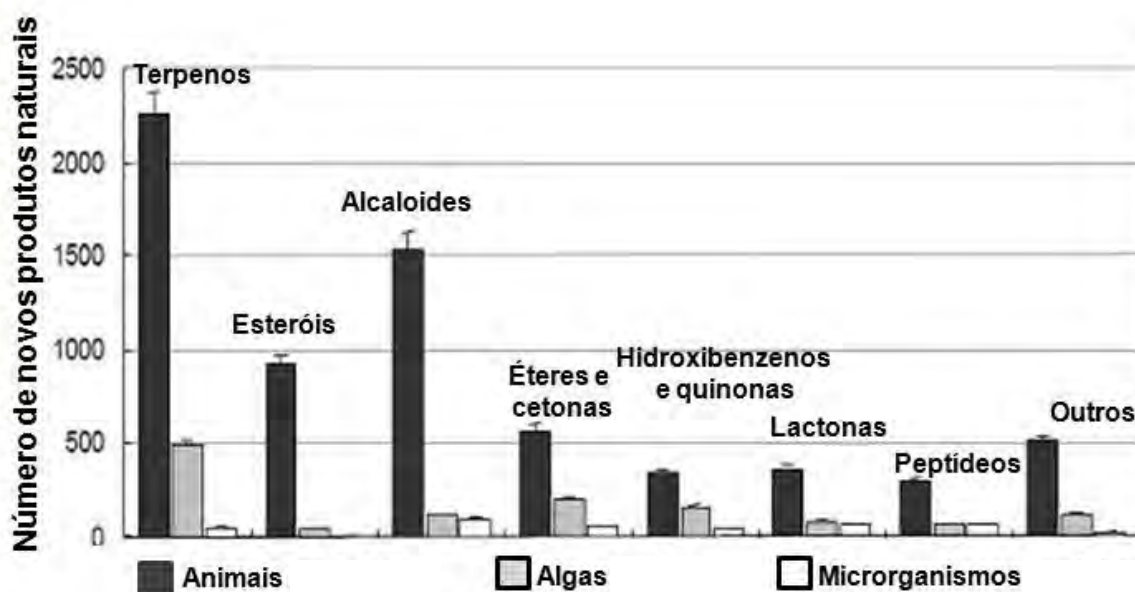


Adaptado: HU *et al.*, 2011

Produtos naturais marinhos

Os metabólitos secundários ou produtos naturais são compostos químicos originários de algas, animais, fungos e bactérias (PAWLIK *et al.*, 2013; BLUNT *et al.*, 2015;), e estão envolvidos em processos de adaptação das espécies ao meio ambiente (TEIXEIRA, 2009). Para o ambiente marinho já foram descritos mais de 21.800 produtos naturais (Fig. 2) (HU *et al.*, 2011; BLUNT *et al.*, 2015; MARINLIT, 2016), pertencentes a diversas classes de substâncias, como terpenos, polifenóis, alcaloides, ácidos graxos, esteróis, entre outros (PAWLIK *et al.*, 2013). O aumento significativo na descoberta dessas moléculas nos últimos anos foi impulsionado, em parte, pelo desenvolvimento de novas tecnologias analíticas e de instrumentos, como a espectroscopia de ressonância nuclear de alta resolução, e a espectrometria de massas acoplada à cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta resolução (LI *et al.* 2015).

Figura 2 - Distribuição de substâncias isoladas de organismos marinhos entre 1985 e 2008.



Adaptado: HU *et al.*, 2011

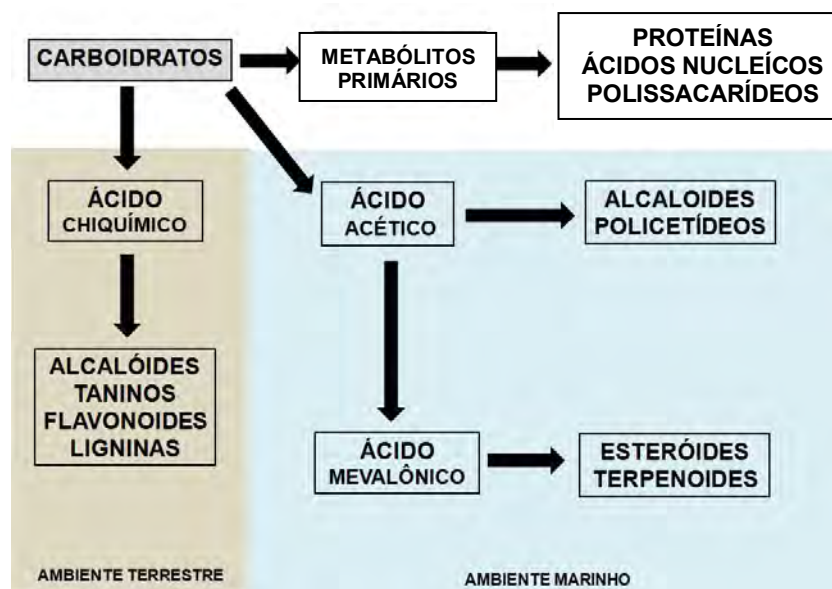
Nas esponjas marinhas, os metabólitos secundários desempenham diversas funções ecológicas: atuam na defesa antipredação (THOMPSON *et al.*, 1985; PAWLIK *et al.*, 1988; CHANAS *et al.*, 1996; BECERRO *et al.*, 1998; LINDEL *et al.*, 2000; MC CLINCTOCK E BAKER, 2001; KUBANEK *et al.*, 2000, 2002; ; MEHBUB *et al.*, 2014) e auxiliam na competição por espaço com outros organismos bentônicos (THOMPSON *et al.*, 1985; HENRIKSON e PAWLIK, 1995; TURON *et al.*, 1996; BECERRO *et al.*, 1997). Também possuem efeito antincrustante, inibindo a formação de biofilme bacteriano (THOMPSON *et al.*, 1985; BOBZIN e FAULKNER, 1992), o assentamento de algas e de outros invertebrados (epibiontes) (PAWLIK, 1992), e o sobrecrescimento de organismos vizinhos (TURON *et al.*, 1996; THACKER *et al.*, 1998; ENGEL e PAWLIK, 2000).

Os invertebrados marinhos produzem produtos naturais bioativos que podem ser úteis para o desenvolvimento de novas drogas (LEAL *et al.*, 2012). O foco principal dos estudos com esponjas marinhas é a identificação de moléculas bioativas com propriedades farmacológicas. Os poríferos têm sido uma fonte importante de substâncias com atividades antitumorais, antivirais e anti-inflamatórias (MEHBUD *et al.* 2014).

No entanto, muitos metabólitos identificados para as esponjas são sintetizados por microrganismos simbiotes (bactérias, cianobactérias, fungos) que estão associadas ao tecido das esponjas (WILKINSON, 1978; FUSETANI, 1993; KOBAYASHI, 1993; HARPER *et al.*, 2001).

Os produtos naturais são sintetizados através das vias do ácido pirúvico ou acético e do ácido chiquímico. No ambiente marinho a via de maior importância é a do piruvato. Durante a síntese metabólica, ela pode sofrer três ramificações: a primeira originando as substâncias policetídicas; a segunda, constituindo a via do ácido mevalônico (mevalonato) e levando a formação de terpenos e esteróis e a terceira, originando os ácidos alifáticos do ciclo de Krebs (Fig. 3). Já a via do chiquimato tem maior expressão no ambiente terrestre (TEIXEIRA, 2009). Alguns compostos são derivados de duas rotas sintéticas, biossíntese mista, como os alcaloides prenilados.

Figura 3 - Representação esquemática das principais vias do metabolismo secundário.



Fonte: Adaptado de TEIXEIRA, 2009.

Os esteróis desempenham papel principal na composição de membranas celulares (metabolismo primário), além de funções fisiológicas. Também atuam na defesa de predadores (RIBEIRO, 2012; FLEURY *et al.*, 2008a; MORINAKA *et al.*,

2009), como anti-incrustante (GUENTHER *et al.*, 2009), na sinalização química para reprodução (FINE e SORENSEN, 2008), e como possíveis alelopáticos (LAGES *et al.*, 2010a; 2010b; 2012). Os esteróis constituem a classe mais abundante na maioria das esponjas marinhas.

Essas substâncias produzidas pelas esponjas apresentam complexidade e diversidade estrutural, podendo ser originadas por quatro processos diferentes (TEIXEIRA, 2009):

1. Biossíntese *de novo* a partir do acetato e mevalonato;
2. Acumulação pela alimentação (filtração) sem transformação posterior;
3. Acumulação pela alimentação (filtração) com transformação posterior;
4. Obtenção através de simbiose com bactérias, algas e fungos;

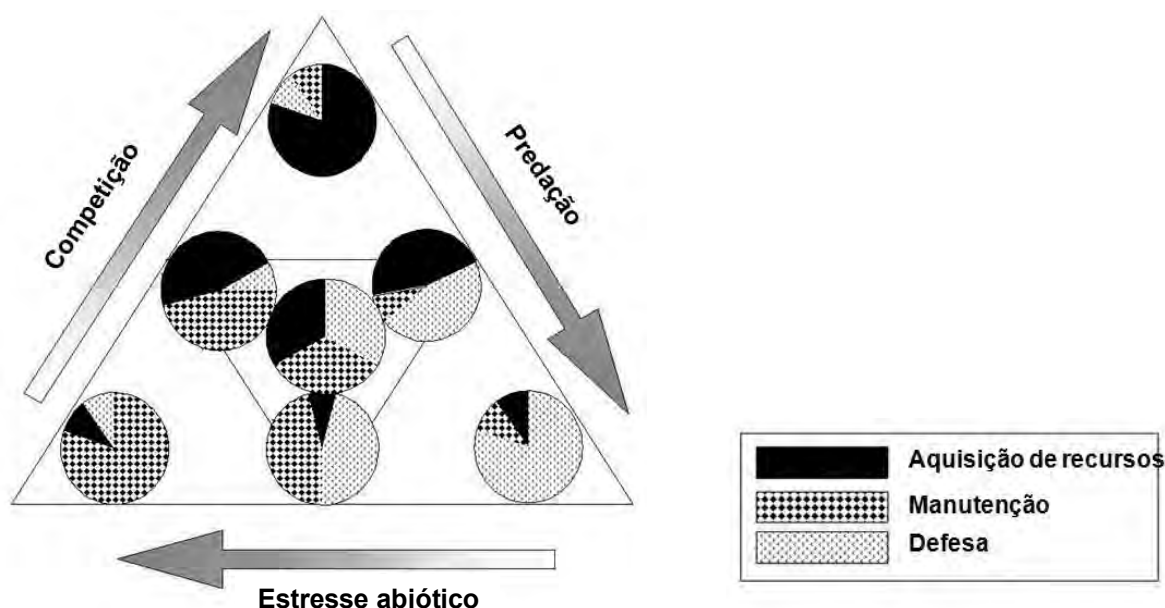
As esponjas são animais produtores da maior diversidade de ácidos graxos entre os organismos aquáticos. Uma característica típica é a presença de ácidos graxos incomuns, com mais de 22 carbonos em sua cadeia. Assim como os esteróis, os ácidos graxos desempenham funções estruturais na membrana celular. Acredita-se que esta função esteja relacionada à capacidade de sobrevivência das esponjas aos mais variados ambientes, como diferentes áreas geográficas, profundidade, salinidade e temperatura (ROD’KINA, 2005). Elas são também capazes de responder metabolicamente aos estresses ambientais (FLEURY *et al.*, 2008b).

Outra classe de substância importante nos organismos marinhos são os alcaloides. Estes compostos estão associados, principalmente, a defesa contra consumidores e competidores por espaço (PAWLIK *et al.*, 1995; LINDEL *et al.*, 2000). Também são amplamente estudados para fins medicinais apresentando, por exemplo, como inúmeras atividades biológicas: antimalárica (SCALA *et al.*, 2010), antitumorais (RYU *et al.*, 1994), antimicrobiana (CARROLL e AVERY, 2009), analgésica e anticoagulante (BERLINCK *et al.*, 2012).

No entanto, produzir defesas químicas pode ser um processo de alto custo (*fitness*), pois demanda a alocação de energia de outras funções vitais como crescimento, reprodução, manutenção do organismo e reserva energética (CRONIN, 2001). A alocação de recursos para esses diferentes processos fisiológicos é dependente de fatores bióticos e abióticos, em que o organismo se encontra (Fig. 4)

(CRONIN, 2001). Em condições de alta pressão de predação é necessária, maior demanda de energia para produção de defesa química quando comparado a condições de pouca predação. Já em condições de estresses abióticos, é mais importante investir recursos em estratégias que auxiliem na manutenção do organismo no ambiente. E em situações de alta competição é mais importante alocar energia para adquirir recursos, como nutrientes, luz, espaço, entre outros. Porém, quando um único metabólito secundário desempenha múltiplas funções (por exemplo, antiincrustante, antimicrobiano, alelopático, proteção contra radiação, atrativos sexuais, entre outros) em um mesmo organismo, seu custo total de produção pode ser menor do que a soma individual dessas funções (CRONIN, 2001).

Figura 4 - Padrões de alocação de recursos previstos para os diferentes gradientes de fatores bióticos e abióticos.



Adaptado: CRONIN, 2001.

Sugere-se que a alocação de recursos ocorra em nível bioquímico, pois a síntese de metabólitos primários e secundários dependem dos mesmos precursores (acetil-CoA, ácido chiquímico e mevalônico), sendo assim um desvio dos

precursores para produção de metabólitos secundários afeta diretamente o metabolismo primário, ou vice-versa (HOWARTH, 1988).

À luz da alocação de defesas químicas, a concentração de metabólitos secundários pode variar em diferentes partes de um organismo, entre diferentes indivíduos de uma mesma população e entre populações diferentes de uma mesma espécie (HAY e STEINBERG, 1992).

Segundo a Teoria de Defesa Ótima (TDO) (sugerida inicialmente para o ambiente terrestre por Roahdes em 1979 e testada por Hay e Fenical em 1996, para o meio marinho), os organismos alocam as defesas de uma forma que reduz os custos de produção e aumenta o *fitness*. TDO prevê que as espécies concentraram suas defesas químicas em tecidos mais vulneráveis (como tecidos mais externos) ou de alto valor (como órgãos reprodutivos e tecidos de crescimento). Desta forma, essa teoria fornece explicações para variações nas defesas inter e intraespecíficas (CRONIN, 2001).

Adicionalmente, a Hipótese de Balanço Crescimento-Diferenciação (HBCD) sugere que a alocação de recurso é destinada para crescimento ou diferenciação (por exemplo, especialização celular e posterior produção de defesa química) (CRONIN, 2001). Sendo a ocorrência da diferenciação posterior a do crescimento (HERMES e MATTSON, 1992). Sendo assim, o investimento em crescimento, resulta em déficit de recursos para diferenciação, ou vice-versa, induzindo a um mecanismo de compensação (*Trade-off*) (HERMES e MATTSON, 1992; CRONIN, 2001; TEIXEIRA, 2009).

A variação metabólica pode ocorrer também em escala espacial. Hay (1991) e Bolser e Hay (1996) sugeriram que organismos marinhos que habitam águas tropicais apresentaram maiores níveis de defesas químicas, quando comparado a espécies de regiões temperadas. Os autores associaram esta hipótese a maior pressão de predação em regiões mais quentes. No entanto, esta hipótese ainda é controversa, pois alguns estudos não observaram variação metabólica em relação a gradientes latitudinais (MC CLINTOCK, 1987; VAN DER VYVER *et al.*, 1990; BECERRO *et al.*, 2003).

A sazonalidade também está relacionada à variação metabólica em organismos marinhos. Alguns autores observaram a maior produção de defesas químicas em

estações mais frias (IVANISEVIC *et al.*, 2011; FERRETI *et al.*, 2009), enquanto que em outras espécies de esponjas, a maior bioatividade foi relatada durante o verão e primavera (TURON, 1996; DUCKWORTH e BATTERSHILL, 2001). No entanto, a variação sazonal nestes estudos está vinculada aos ciclos de reprodução, onde as maiores produções metabólicas ocorreram durante os picos reprodutivos. Corroborando a hipótese de *trade-off* entre reprodução e defesas químicas.

Estudos sobre variações metabólicas possibilitam conhecer as características ecológicas de cada espécie, compreender sua história de vida, assim como desvendar os segredos do sucesso de ocupação das esponjas nos mais diversos ambientes aquáticos. Esponjas têm sido relatadas como substitutas de corais em alguns recifes após eventos ambientais como aumento de temperatura da água, doenças de corais, El niño, entre outros (ANTONIUS e BALLESTEROS, 1998; DIAZ e RUTZLER, 2001; ARONSON *et al.*, 2002; KELMO, 2002; LOPEZ-VICTORIA e ZEA, 2004; WARD-PAIGE *et al.*, 2005; MALIAO *et al.*, 2008; NORSTRÖM *et al.*, 2009; PAWLIK, 2011).

Esponja *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882

A esponja marinha *Desmapsamma anchorata* Carter, 1882 (Fig. 5) pertence à classe Demospongiae, ordem Poecilosclerida, família Desmacididae. O gênero *Desmapsamma* compreende três espécies no mundo, sendo que apenas *D. anchorata* ocorre no Brasil (HAJDU *et al.*, 2011; VAN SOEST *et al.*, 2016).

Figura 5 - Esponja marinha *Desmapsamma anchorata*.



Fonte: A autora, jun/2014.

Sua distribuição se restringe principalmente ao Atlântico tropical e subtropical (MC LEAN, 2006), sendo encontrada no Caribe, Golfo do México, Brasil (HAJDU et al., 2011; VAN SOEST *et al.*, 2016) e África (MC LEAN, 2006). A espécie foi relatada como introduzida no Pacífico Sul, associada ao octocoral *Carijoa riisei* (CALCINAI *et al.*, 2004). No Brasil, é amplamente distribuída, podendo ser observada desde o Rio Grande do Norte até o Rio de Janeiro (HAJDU et al., 2011). *D. anchorata* pode ocorrer em diversos tipos de ambiente, como baías, lagoas, manguezais e oceanos (ZEA, 1987; VICENTE, 1989), sendo observada desde águas superficiais a profundas, e habitats protegidos a muito hidrodinâmicos (MC LEAN, 2006).

D. anchorata apresenta uma variedade de formas, desde ramosa, com ramificações cilíndricas irregulares (até 60 x 3 cm), características de locais mais abrigados; a formas maciças em cristas (até 40 x 40 cm), típicas de locais com maior hidrodinamismo (HAJDU et al., 2011). A espécie possui coloração externa vermelha-rosada, às vezes quase branca; e interna avermelhada (HAJDU et al., 2011). Seu padrão de cor pode variar sazonalmente, devido a mudanças químicas da água (ZEA, 1987).

Uma característica marcante da espécie é seu crescimento indeterminado, podendo crescer varias vezes mais rápido que outras espécies (WULFF, 2005; MC LEAN, 2006; MC LEAN e YOSHIOKA, 2008, MC LEAN *et al.*, 2014). *D. anchorata* é frequentemente relatada como epibionte sobre outros organismos (AERTS e VAN SOEST, 1997), inclusive esponjas, como *Amphimedon compressa*, *Callyspongia*

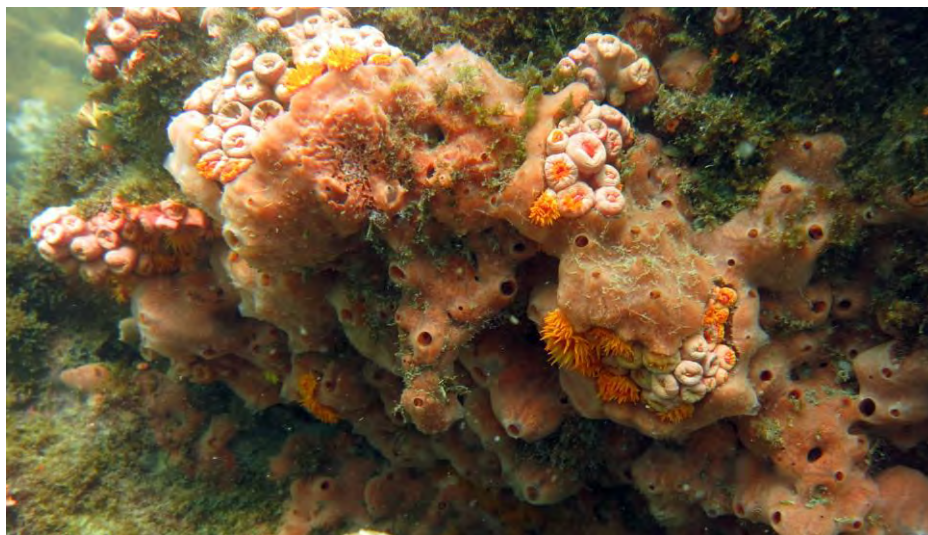
vaginalis; e os cnidários *Siderastrea siderea*, *Palythoa caribaeorum* (Fig. 6), *Pseudopterogorgia* sp., assim como sobre outras gorgônias e hidrocorais (MC LEAN e YOSHIOKA, 2008). No Brasil, o sobrecrecimento de *D. anchorata* já foi relatado até nos corais invasores *Tubastraea* spp. (Fig. 7) (DE PAULA, 2007; MEURER *et al.*, 2010; SILVA, 2014). A espécie também foi observada associada de forma intercalada com a esponja *Amphimedon viridis*, na Baía de Ilha Grande, RJ (observação pessoal) (Fig.8). A associação de *D. anchorata* com *Carijoa riisei*, tem influencia positiva no crescimento de ambas as espécies, sugerindo assim uma cooperação entre elas (CALCINAI *et al.*, 2004). Entretanto, McLean e Yoshika (2007) observaram uma interação negativa entre *D. anchorata* e *Gorgonia ventalina*, onde ocorreu descoloração no tecido do octocoral, indicando um efeito alelopático da esponja.

Figura 6 - Esponja marinha *Desmapsamma anchorata* crescendo sobre o cnidário *Palythoa caribaeorum*.



Fonte: A autora, jun/2014.

Figura 7 - Esponja marinha *Desmapsamma anchorata* crescendo sobre os corais invasores *Tubastraea* spp.



Fonte: A autora, jun/ 2014.

Figura 8 - Esponjas marinhas *Desmapsamma anchorata* e *Amphimedon viridis* crescendo sobrepostas.



Fonte: A autora, fev/2015.

D. anchorata também produz uma diversidade de metabólitos secundários, dentre eles, esteróis (QUIJANO *et al.*, 1994), ácidos graxos (CARBALLEIRA e MALDONADO, 1988; CARBALLEIRA e SHALABI, 1994), aldeídos (CARBALLEIRA e SHALABI, 1994) e alcaloides (COMPAGNONE *et al.*, 1999). Porém somente alguns estudos relatam suas funções, dentre eles: atividade alelopática inibindo o assentamento larval de outros invertebrados (BINGHAM e YOUNG, 1991); antibacteriano (OSINGA *et al.*, 1999) e atividades farmacológicas (ATTA *et al.*, 1990). Moura (2011) observou que *D. anchorata* induziu a agregação plaquetária e a coagulação sanguínea. Além de inibir a proteólise e hemólise induzida pelo veneno da *Bothrops jararaca* (Jararaca) e *Lachesis muta* (Surucucu) (FAIOLE *et al.*, 2013).

O sucesso do estabelecimento e da grande abundância de *D. anchorata* em recifes e costões com alta diversidade de competidores pode ser atribuído à rápida taxa de crescimento, à capacidade de regeneração (AERTS, 1998); assim como à produção de defesa química. Desta forma, pode existir um *trade-off* entre a função primária (crescimento mais rápido) e a secundária (produção de defesa química) nesta espécie (SINGH e THAKUR, 2015).

D. anchorata é uma espécie de grande importância para as comunidades bentônicas que habitam, apresentando características de rápido crescimento, produção de defesa química, além de ser capaz de competir com espécies invasoras. Sendo assim, estudos que abordam a ecologia aliada à produção de defesas químicas são de grande valia para melhor compreensão da espécie e de seu papel no ambiente.

O presente estudo buscou avaliar as variações metabólicas intra e interpopulacional em colônias da esponja marinha *Desmapsamma anchorata* (Demospongiae) em escalas temporais e espaciais na Baía de Ilha Grande. O capítulo primeiro capítulo compara a produção metabólica intra e interpopulacional de *D. anchorata* entre cinco comunidades bentônicas da Baía de Ilha Grande. Enquanto que, o segundo capítulo relaciona a possível variação da produção metabólica de *D. anchorata* às taxas de crescimento da espécie (*Trade-off*), ao longo do tempo.

ÁREA DE ESTUDO

A Baía de Ilha Grande (BIG) está localizada no sul do Estado do Rio de Janeiro ($22^{\circ}50'-23^{\circ}20'S$, $44^{\circ}00'-44^{\circ}45'W$), entre as cidades de Angra dos Reis e Paraty. Possui grande beleza paisagística e uma rica fauna e flora, sendo considerada santuário de biodiversidade singular (*hot-spot*). Devido à alta diversidade e riqueza de espécies marinhas, a Baía da Ilha Grande possui o maior número de unidades de conservação do Estado do Rio de Janeiro, onze ao total (CREED *et al.*, 2007).

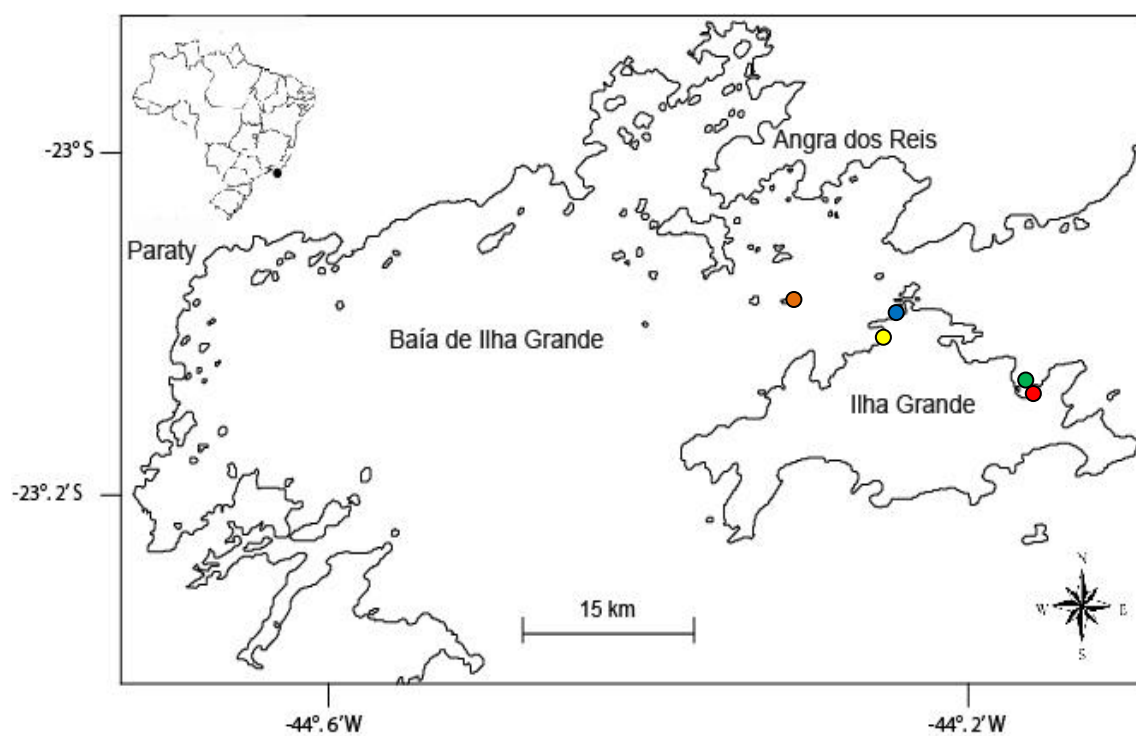
A beleza paisagística atrai grande número de visitantes, tornando o turismo e o lazer náutico as principais atividades econômicas da região (CREED *et al.*, 2007). Porém, o crescimento da BIG como polo turístico desencadeou desenvolvimento desordenado, causando danos aos sistemas costeiros (COSTA, 1998; ALHO *et al.*, 2002). Há também na região a presença de um terminal petrolífero, um terminal de minério, um estaleiro e duas usinas nucleares, gerando risco de impacto para os ecossistemas naturais da região (DE PAULA e CREED, 2005).

O presente estudo foi desenvolvido na parte interna da BIG, região voltada para o continente (Fig. 9). O monitoramento referente ao primeiro capítulo e o experimento do segundo capítulo foram realizados em cinco locais: Abraãozinho, Ilha do Abraão, Bananal, Lagoa azul e Queimada Pequena. Enquanto que o experimento de terceiro capítulo foi realizado no Abraãozinho (Tab. 1).

Tabela 1– Locais de estudo e coordenadas geográficas na Baía da Ilha Grande.

Locais de Estudo	Latitude	Longitude
Praia do Abraãozinho	$023^{\circ}07,952'S$	$44^{\circ}09,116'W$
Ilha do Abraão	$023^{\circ}06,899'S$	$44^{\circ}09,995'W$
Bananal	$023^{\circ}06,050'S$	$44^{\circ}15,479'W$
Lagoa Azul	$023^{\circ}06,050'S$	$44^{\circ}14,556'W$
Queimada Pequena	$023^{\circ}05,476'S$	$44^{\circ}18,571'W$

Figura 9 - Mapa dos locais de estudo, Baía da Ilha Grande, RJ.



Legenda: ● Praia do Abraozinho, ● Ilha do Abraão, ● Lagoa Azul, ● Bananal e ● Queimada Pequena.

1. VARIAÇÃO METABÓLICA INTRA E INTERPOPULACIONAL DA ESPONJA MARINHA *Desmapsamma anchorata* NA BAÍA DE ILHA GRANDE, RJ.

1.1 Introdução

Entender a variação da produção de metabólitos secundários é importante para compreender a ação da evolução, os mecanismos de regulação da população e a influência dos fatores fenotípicos e genéticos para biodiversidade marinha (HAY e FENICAL, 1996).

Diversos estudos apontam para uma maior produção de metabólitos secundários em tecidos mais externos da esponja, como uma estratégia de defesa, devido a maior vulnerabilidade dessas regiões à predação e competição (SCHUPP *et al.*, 1999; FREEMAN e GLEASON, 2012). Como por exemplo, as esponjas do gênero *Aplysina* spp. (TURON *et al.*, 2000), *Crambe crambe* (BECERRO *et al.*, 1997), *Rhopaloeides odorabile* (THOMPSON *et al.*, 1987), *Latrunculia apicalis* (FURROW *et al.*, 2003), *Magnifica negombata* (GILLOR *et al.*, 2000) e *Cacospongia* sp. (BECERRO *et al.*, 1998).

Em algumas espécies de esponjas e algas, esses metabólitos são produzidos e armazenados em células específicas, geralmente próximas ao tecido ectossomal, evitando assim a autotoxicidade (THOMPSON *et al.*, 1983; BECERRO *et al.*, 1997; STEINBERG e DE NYS, 2002; SUDATTI *et al.*, 2008). Concentrar as defesas químicas em regiões específicas do corpo resulta em economia de recurso para outras funções fisiológicas importantes, como crescimento e reprodução (*Trade-off*). Essas variações condizem com a Hipótese de Defesa Ótima (CRONIN, 2001).

Diferenças geográficas podem resultar em variações metabólicas. Ruzicka e Gleason (2007) observaram que esponjas de ambientes tropicais são mais defendidas quimicamente do que esponjas de regiões temperadas, devido à diferença na pressão de predação. A mesma hipótese já havia sido colocada para algas por Hay (1991) e Bolser e Hay (1996). Em populações próximas geograficamente, também foi possível observar diferenças na produção de compostos químicos (ABDO *et al.*, 2007; PAGE *et al.*, 2005; SACRISTAN-SORIANO *et al.*, 2011). Fatores abióticos (luminosidade, hidrodinamismo, temperatura da água, salinidade, profundidade) e bióticos (competição e predação) podem influenciar as

variações metabólicas intra e interespecíficas. Esponjas de ambientes sombreados, com maior dominância de competidores como corais e ouriços, apresentaram maiores níveis de citotoxicidade, quando comparados à ambientes iluminados, dominados por algas (BECERRO *et al.*, 1995; WRIGHT *et al.*, 1997).

Outro fator relacionado à variação metabólica interpopulacional, são as defesas químicas induzidas. Defesas constitutivas (presentes normalmente no organismo) são dispendiosas energeticamente, mesmo na ausência de predadores, quando não são necessárias. Produzir defesas químicas somente na presença de inimigos é uma estratégia que reduz os custos, além de ser muito eficaz (HARVELL, 1990; BALDWIN, 1994).

Nos ambientes de costões rochosos da Baía da Ilha Grande, a esponja *D. anchorata*, compete por espaço com outros organismos bentônicos, como por exemplo, o cnidário *P. caribaeorum*, as algas formadoras de tapete e os corais invasores *Tubastraea* spp. (LAGES *et al.*, 2012). Sabe-se que na Bahia esta espécie faz parte dieta do peixe *Holacanthus tricolor* (peixe-anjo) (HAJDU *et al.*, 2011). Apesar de produzir diversos compostos secundários (CARBALLEIRA e MALDONADO, 1988; CARBALLEIRA e SHALABI, 1994; QUIJANO *et al.*, 1994; COMPAGNONE *et al.*, 1999), e apresentar crescimento indeterminado (WULFF, 2005; MC LEAN, 2006; MC LEAN *et al.*, 2008, 2014) nenhum estudo abordou a variação metabólica nesta esponja.

Neste capítulo, buscou-se investigar a existência de variação populacional em relação à produção de metabólitos secundários pela esponja marinha *D. anchorata*, na Baía de Ilha Grande, RJ.

1.2 Objetivos

- Avaliar a ocorrência de variação na produção de metabólitos secundários intracolônial (base e extremidade) e intrapopulacional de *D. anchorata* por cada local separadamente, na Baía de Ilha Grande, RJ.
- Avaliar a ocorrência de variação espacial de metabólitos secundários produzidos pelas diferentes populações (interpopulacional) de *D. anchorata*, na Baía de Ilha Grande, RJ.

1.3 Hipóteses

- *D. anchorata* tem maior concentração de metabólitos secundários na região distal (extremidade) da colônia, seguindo a Hipótese de Defesa Ótima.
- *D. anchorata* apresenta variação interpopulacional em relação à produção de metabólitos secundários, associada a características ambientais.

1.4 Materiais e métodos

1.4.1 Caracterização das comunidades bentônicas

As cinco comunidades bentônicas, onde houve a coleta das amostras de *D. anchorata*, foram caracterizadas quanto à composição de espécies, riqueza, diversidade e uniformidade.

Em cada local de estudo foi lançado, paralelamente a linha do costão, cinco transectos de 10 m, a uma profundidade de 2 a 4 metros (Fig. 10). Seis quadrados aleatórios (0,50 x 0,50 m) foram lançados aleatoriamente acima ou abaixo de cada transecto. Cada quadrado foi subdividido em 25 quadrados de área de 0,10 x 0,10m.

Figura 10 – Metodologia de transecção



Ilustração: modificado de Anderson de Souza (Projeto Coral-Sol).

A coleta dos dados foi realizada em junho de 2014, através de mergulho autônomo, seguindo a metodologia de censo visual onde foi registrado o organismo com maior porcentagem de cobertura espacial em cada subdivisão do quadrado amostral. Essa metodologia é utilizada no monitoramento intensivo pelo Projeto Coral-Sol para monitorar os corais invasores *Tubastraea* spp. no litoral brasileiro desde 2005; sendo aplicada por pesquisadores do Laboratório de Ecologia Marinha Bêntica da UERJ (LAGES *et al.*, 2011; LAGES, 2012; MANTELATTO, 2012; MANTELATTO *et al.*, 2013 e FERREIRA, 2014). Segundo Mantelatto e colaboradores (2013), este método é muito eficiente na amostragem, pois possui a melhor resolução taxonômica e sensibilidade (habilidade para detectar espécies raras, pequenas e crípticas) para identificação de organismos, quando comparado a métodos digitais.

A composição da comunidade foi analisada através da porcentagem de cobertura média das principais espécies ocupadoras de espaço nos quadrados. Em seguida foi 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 parâmetros de comunidade foram realizados utilizando o programa PRIMER 6.1.13 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research).

1.4.2 Coleta das amostras

Para verificar se houve variação espacial intra e interpopulacional na produção metabólica, foram selecionadas aleatoriamente cinco colônias de *D. anchorata* em cada local de estudo: Abraozinho, Ilha do Abraão, Bananal, Lagoa Azul e Queimada Pequena. Em cada colônia foram coletadas amostras da extremidade e região basal (5cm de cada região), totalizando 50 amostras (Fig. 13). Estas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas imediatamente, até dar início ao processo de extração em laboratório.

Figura 11 - Esquema de coleta das amostras intracoloniais de *Desmapsamma anchorata*.

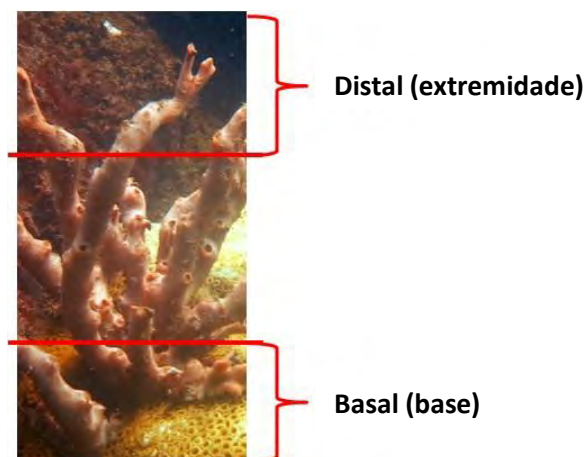


Foto: A autora, fev/2015.

1.4.3 Extração dos metabólitos de *D. anchorata*

Todas as colônias coletadas foram limpas de epi- e endobiontes, pesadas após retirada de excesso de água, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas imediatamente, até dar início ao processo de extração em laboratório. A extração dos compostos orgânicos foi realizada seguindo a metodologia de fitoquímica clássica. As amostras de *D. anchorata* foram descongeladas e secas ao ar livre por 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida foram pesadas e extraídas (três vezes) com solvente orgânico metanol. Em cada etapa da extração, as amostras foram submetidas à lise celular, com auxílio de ultrassom, por uma hora, fracionados em intervalo de 20 minutos. Posteriormente, as soluções (extratos brutos) foram filtradas e os solventes das soluções foram evaporados sob pressão reduzida em evaporador rotatório, com banho morno de aproximadamente 50°C, obtendo assim os resíduos orgânicos das diferentes amostras (Fig. 14). O volume de solvente utilizado para cada extração foi equivalente a duas vezes o volume da amostra. Os resíduos orgânicos obtidos, designados aqui como extratos brutos apresentaram uma coloração que variou desde laranja a vermelho escuro.

Figura 12 - Esquema de extração dos compostos orgânicos.



A *D. anchorata* é muito rica em ácidos graxos, por este motivo foi necessário submeter os extratos brutos ao processo de derivatização por diazometano, para não causar danos na coluna cromatográfica. Para isto, cerca de 2mL de diazometano foi adicionado a aproximadamente 1mg de extrato bruto de cada amostra. A derivatização é uma reação no qual o constituinte a ser analisado é modificado quimicamente tornando mais fácil a sua detecção ou separação. O diazometano é um reagente muito utilizado na metilação de ácidos carboxílicos permitindo obter ésteres metílicos (HARRYS, 2001; ZHU *et al.*, 2006). É uma reação muito rápida e completa, prosseguindo a temperatura ambiente e não necessitando de purificação da solução (ROSA, 2014).

1.4.4 Análise em CG/EM/EMAR

As alíquotas derivatizadas (1 mg) de cada amostra foram diluídas em 240µL de diclorometano e analisadas em aparelho altamente sensível, um cromatógrafo em fase gasosa de alta resolução, acoplado a espectrômetro de massa triploquadripolo (GC/EM/EMAR), com injetor automatizado (marca CGAR-MS r e r modelo Scion 456 GC-TQ MS), equipado com coluna BR-5ms de 30m, 0.25 mm de diâmetro interno, e 0.25 µm de espessura de filme. O gás carreador foi hélio ao fluxo de 1,0 mL/min. As amostras foram injetadas sem divisão de fluxo (*splitless*) por um segundo, e após esse período de tempo, com divisão de fluxo (*split*), na razão de 1:20. O método empregou temperatura inicial de 60°C com taxa de aquecimento (rampa) de 5°C/ min. até atingir 290°C, perfazendo um total de 61 minutos. As temperaturas do injetor foram fixadas a 300°C. Os cromatogramas gerados foram

analisados com auxílio do software MSworkstation version 8.0 para detecção das substâncias de interesse. Os espectros de massas obtidos foram comparados com os contidos na biblioteca NIST, os quais indicaram quais as substâncias mais prováveis a serem encontradas nas amostras.

1.4.5 Tratamento dos dados

As análises de CG/EM/EMAR forneceram espectros com picos cromatográficos correspondentes a cada substância metabólica presentes nas amostras de *D. anchorata*. A abundância relativa (%) de cada substância nas amostras foi obtida através da área correspondente aos seus respectivos picos, em seguida transformadas em arco-seno ($\sqrt{x+1}$), e agrupadas por classes de substâncias, para posterior análise estatística dos dados.

Um Índice de Variação Fisiológica (IVF) foi criado a partir da razão entre as abundâncias médias (%) de alcaloides/ácidos graxos e alcaloides/esteróis. Esse índice reflete em um balanço entre a alocação de recurso para defesa química (alcaloides) e reserva de energia e constituintes de membranas (ácidos graxos), e constituintes de membranas ou defesa química (esteróis). IVF pode ser utilizado em diversas ocasiões, como por exemplo, para indicar investimento energético em produção de defesa em situação de estresse ambiental ou período reprodutivo nos corais (FLEURY, 1999; FLEURY *et al.*, 2000; 2006).

As abundâncias médias (%) de cada classe de substâncias nas amostras foram submetidas à Análise de Correlação de Pearson e Análise de Componentes Principais (PCA). A primeira análise permitiu verificar a existência de relações entre essas categorias de substâncias e as taxas de crescimento das colônias. A segunda possibilita observar a semelhança das amostras (diferentes colônias e tempos), como elas se agrupam, de acordo com sua composição metabólica. Ambas análises foram realizadas com auxílio do programa R Core Team (2015), versão 3.2.1, pacotes: vegan, devtools e ggbiplot.

As PCAs das substâncias separadas (não agrupadas por classes) explicaram pouco a organização dos dados, desta forma optou-se por agrupar as substâncias por classes.

1.5 Resultados

1.5.1 Comunidades bentônicas

Foram encontradas um total de 17 táxons maiores ocupadores de espaço, sendo as espécies mais abundantes nas comunidades bêmicas: as algas formadoras de tapete (50,6%) e o cnidário *Palythoa caribaeorum* (41,8%). Dentre os poríferos, podemos destacar a esponja *Iotrochota arenosa* (1,8%), seguida da *Desmapsamma anchorata* (0,8%) (Tab. 2).

Tabela 2 - Lista de táxons encontrados, porcentagem média de cobertura e erro padrão (\pm) para os cinco locais de estudo, na Baía de Ilha

Táxon	ABZ	IA	BN	LA	QP	MC(EP \pm)
Algae						
Alga calcária incrustante	9,13	0,29	0,00	0,13	1,07	2,12 (4,62)
Alga formadora de tapete	32,67	54,50	37,89	85,66	41,47	50,44 (0,85)
<i>Padina gymnospora</i> (Kützinger) Sonder	0,00	0,51	0,00	0,00	0,51	0,20 (0,06)
Cnidaria						
<i>Apitasia pallida</i> (Agassiz in Verrill, 1864)	1,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30 (4,49)
<i>Carijoa riisei</i> (Duchassaing & Michelotti, 1846)	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03 (0,15)
<i>Mussismilia hispida</i> (Verrill, 1901)	1,21	0,15	0,27	0,53	0,93	0,62 (0,10)
<i>Palythoa caribaeorum</i> (Duchassaing & Michelotti, 1860)	53,37	37,05	57,59	7,53	53,30	41,77 (0,09)
<i>Pennaria disticha</i> (Goldfuss, 1820)	0,00	0,15	0,00	0,00	0,15	0,06 (0,06)
<i>Tubastraea coccinea</i> (Lesson, 1829)	1,61	0,00	0,28	0,00	0,00	0,38 (0,01)
<i>Tubastraea tagusensis</i> (Wells, 1982)	0,27	1,14	0,55	0,67	0,13	0,55 (0,02)
<i>Zoanthus sociatus</i> (Ellis & Solander, 1786)	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,13 (0,14)
Ectoprocta						
<i>Schizoporella sp.</i>	0,00	1,06	0,14	0,00	1,06	0,45 (0,12)
Porifera						
<i>Clathria venosa</i> (Alcolado, 1984)	0,00	0,80	0,00	0,00	0,00	0,16 (0,08)
<i>Desmapsamma anchorata</i> (Carter, 1882)	0,13	0,75	0,71	1,60	0,53	0,75 (0,37)
<i>Mycale angulosa</i> (Duchassaing & Michelotti, 1864)	0,00	0,29	0,00	0,00	0,29	0,12 (0,12)
<i>Iotrochota arenosa</i> (Rützler, Maldonado, Piantoni & Riesgo, 2007)	0,00	2,91	1,90	3,88	0,13	1,76 (0,04)
Urochordata						
<i>Phallusia nigra</i> (Savigny, 1816)	0,00	0,44	0,00	0,00	0,44	0,18 (0,05)

grande, RJ.

Legenda: ABZ– Abraãozinho, IA– Ilha do Abraão, BN- Bananal, LA– Lagoa Azul, QP– Queimada Pequena, MC- Média de cobertura e EP– Erro padrão.

1.5.2 Variação intra e interpopulacional de metabólitos secundários

O perfil químico das diferentes amostras de *D. anchorata* analisadas por CG/EM/EMAR mostrou a presença de 72 substâncias, pertencentes às classes de ácidos graxos, alcaloides, aldeídos, esteróis e hidrocarbonetos. Os esteróis e ácidos

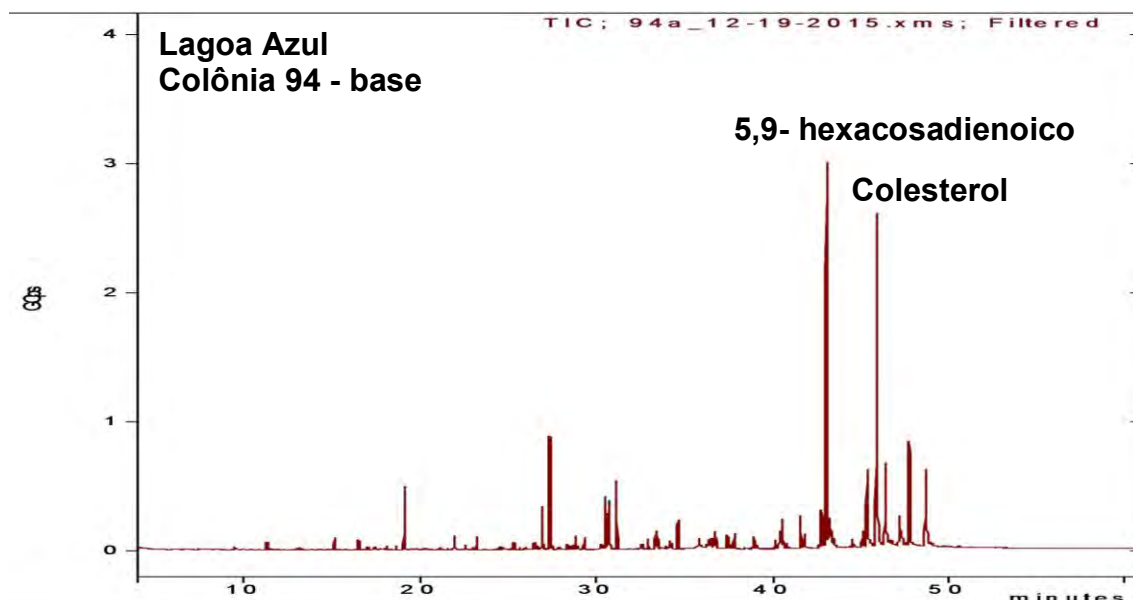
graxos foram as classes majoritárias, apresentando 69% e 31% de abundância média, respectivamente (Tab. 3).

Tabela 3 - Número de substâncias e abundância média das diferentes classes de substâncias encontradas nas amostras intra e interpopulacionais de *D. anchorata*.

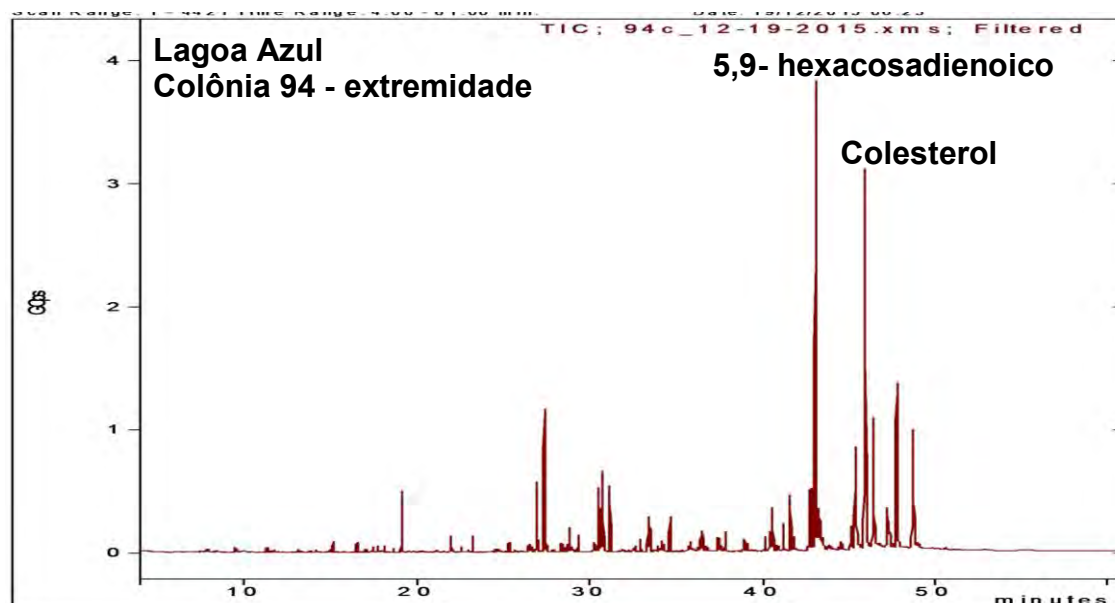
Classes de substâncias	Número de substâncias	Abundância média (%)
Ácidos graxos	48	30,70
Alcaloides	2	0,02
Aldeídos	2	0,02
Esteróis	19	69,10
Hidrocarbonetos	1	0,17

Na classe dos esteróis, as substâncias mais abundantes foram colest-5-en-3 β -ol (colesterol) (24%) (Fig. 13 e 14), (22E,24S)-24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (stigmasterol) (12,%) (Fig. 13 e 15), (22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassicasterol) (7%) (Fig. 15 e 18), Estigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol) (6,80%) (Fig. 13 e 16). Já na classe dos ácidos graxos, podemos destacar éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico (17%) (Fig. 13 e 17) e o éster metílico do ácido hexadecanoico (2%) (Fig.13 e 18). As abundâncias das substâncias identificadas em cada amostra podem ser consultadas no Anexo A.

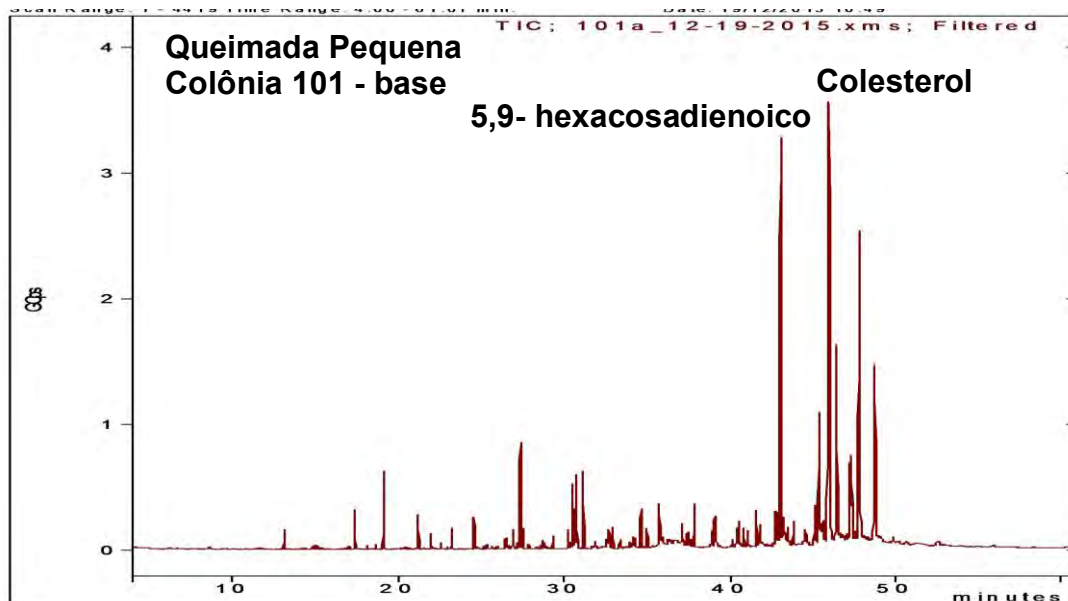
Figura 13 - Cromatogramas dos esteróis e ésteres metílicos dos ácidos graxos mais abundantes encontrados nas amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata*, em diferentes locais da BIG.



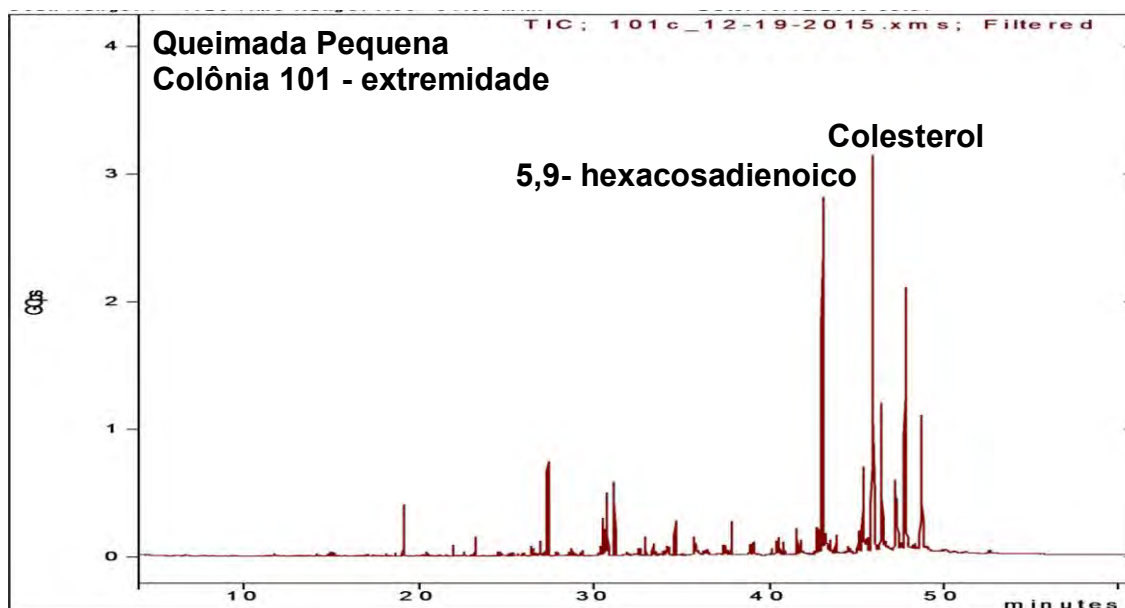
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



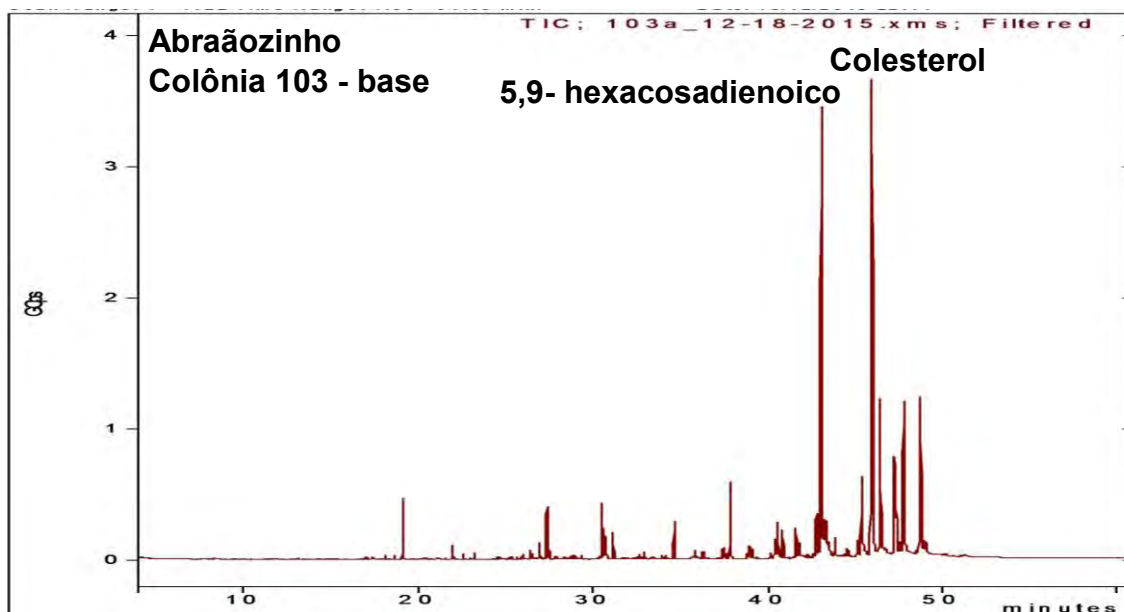
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



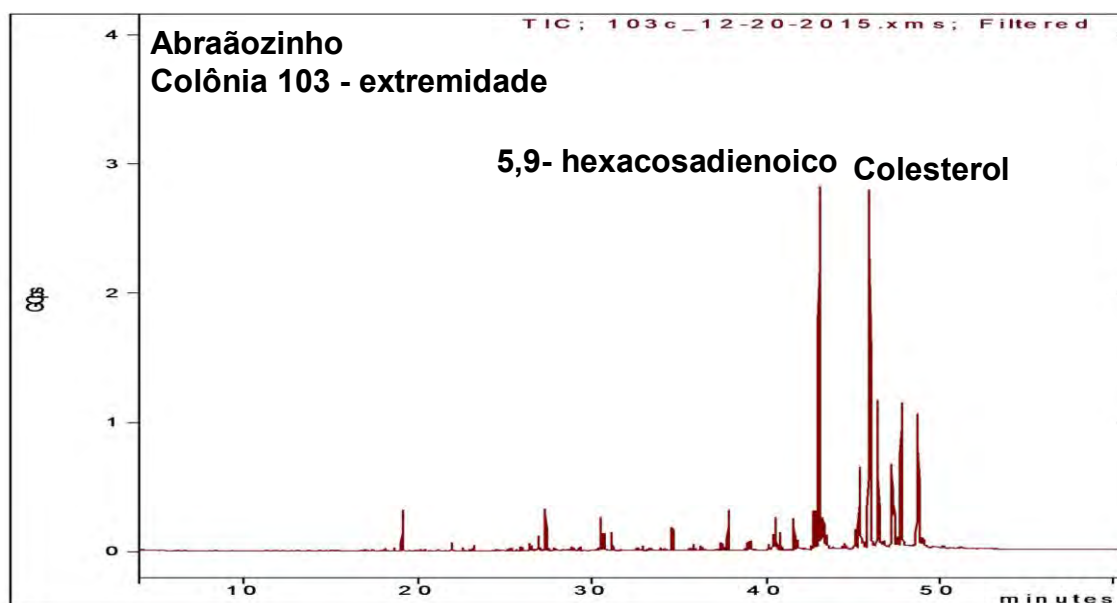
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



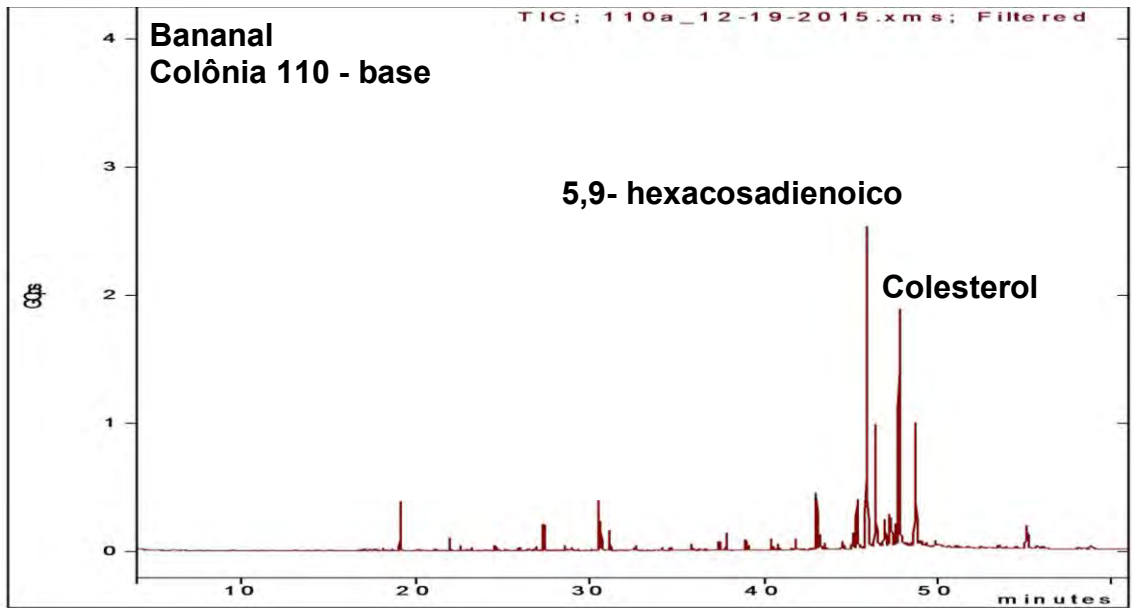
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



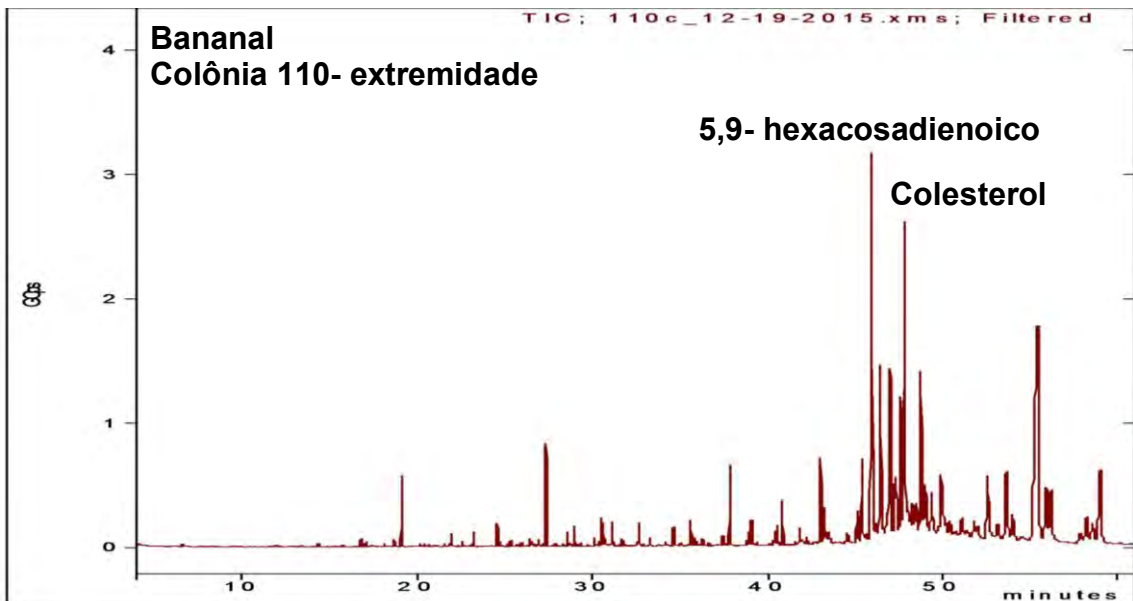
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



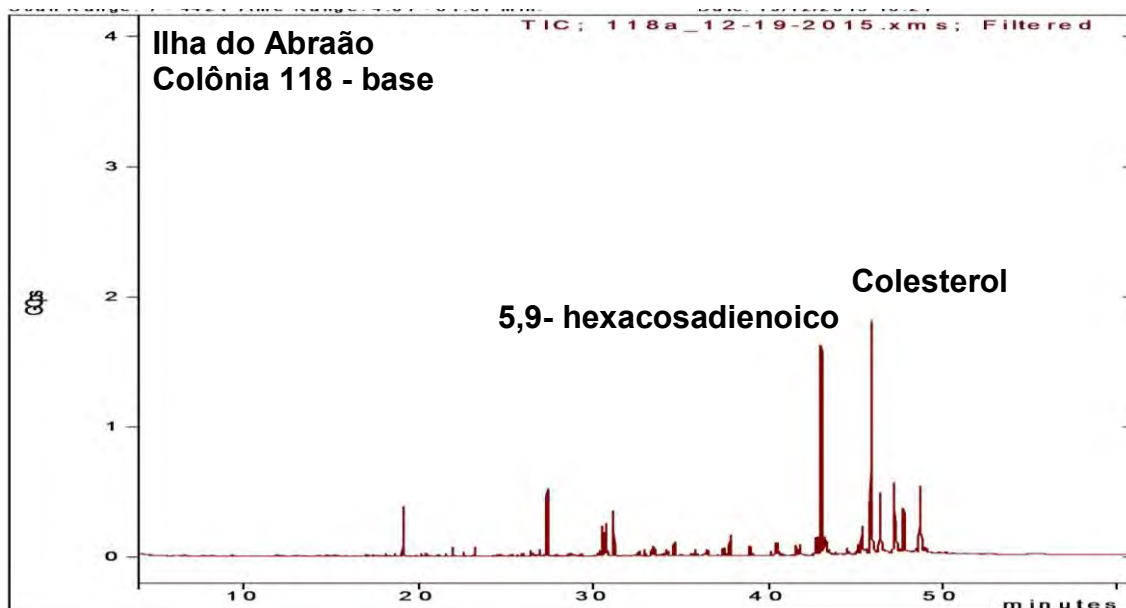
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



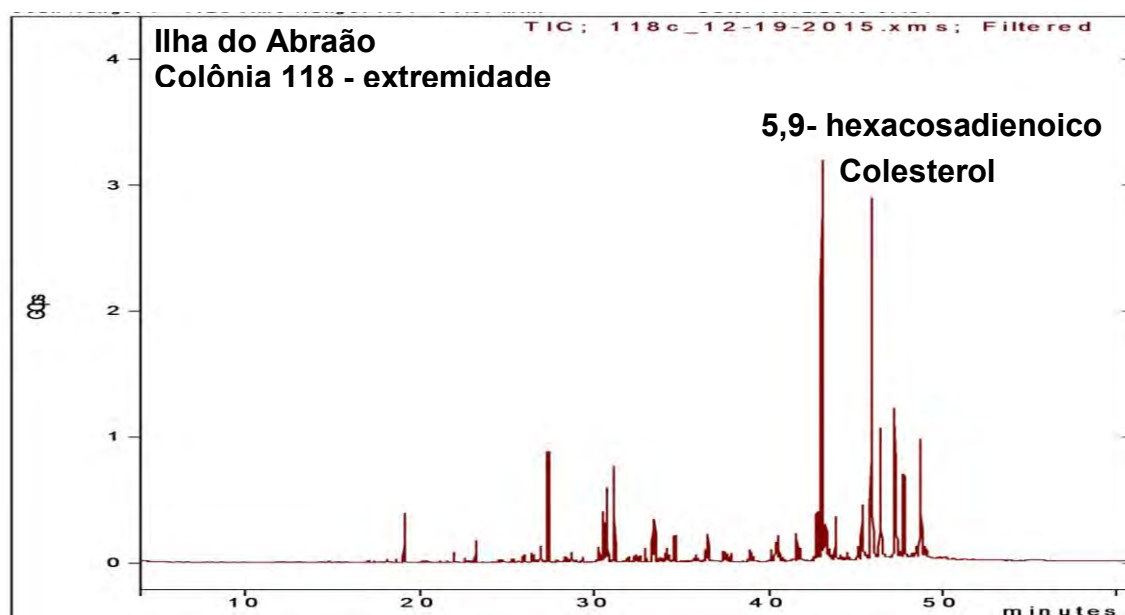
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção. Eixo vertical corresponde à intensidade do sinal das substâncias.



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



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



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

Figura 14 - Estrutura molecular do colest-5-en-3 β -ol (colesterol).

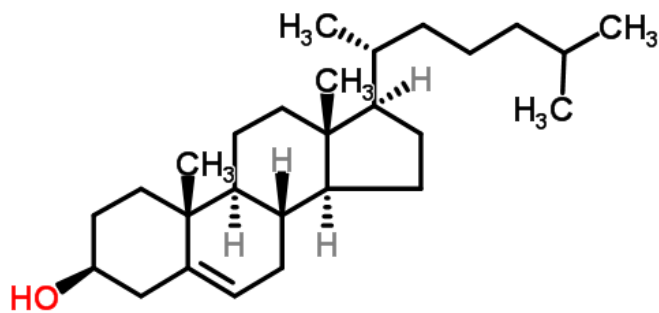


Figura 15 - Estrutura molecular do (22E,24S)-24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (estigmasterol).

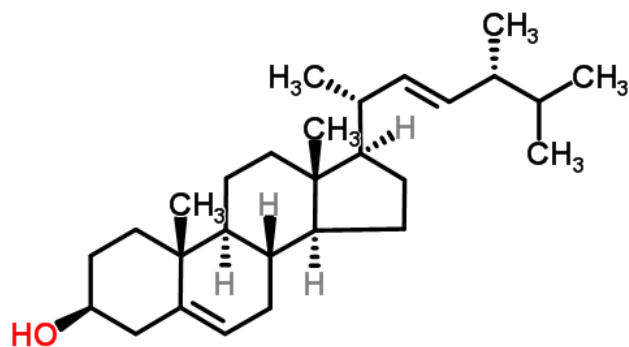


Figura 16 - Estrutura molecular do (22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassicasterol)

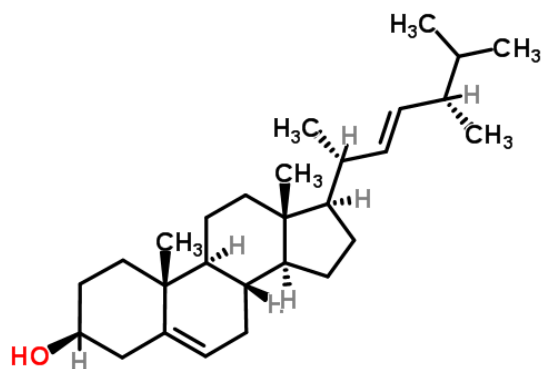


Figura 17- Estrutura molecular do Estigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol)

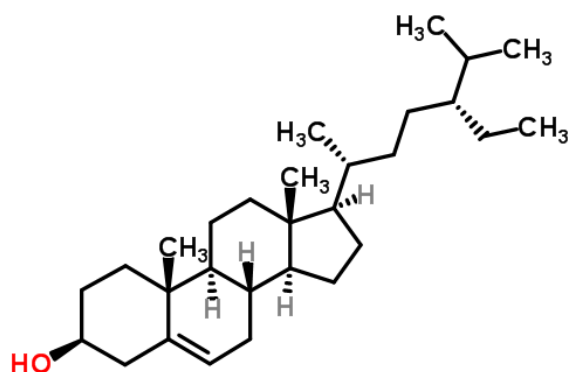


Figura 18 - Estrutura molecular do 5,9-hexacosadienoico

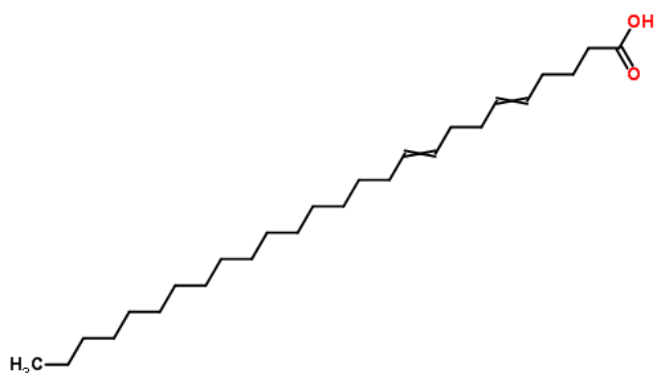
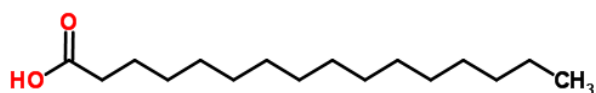


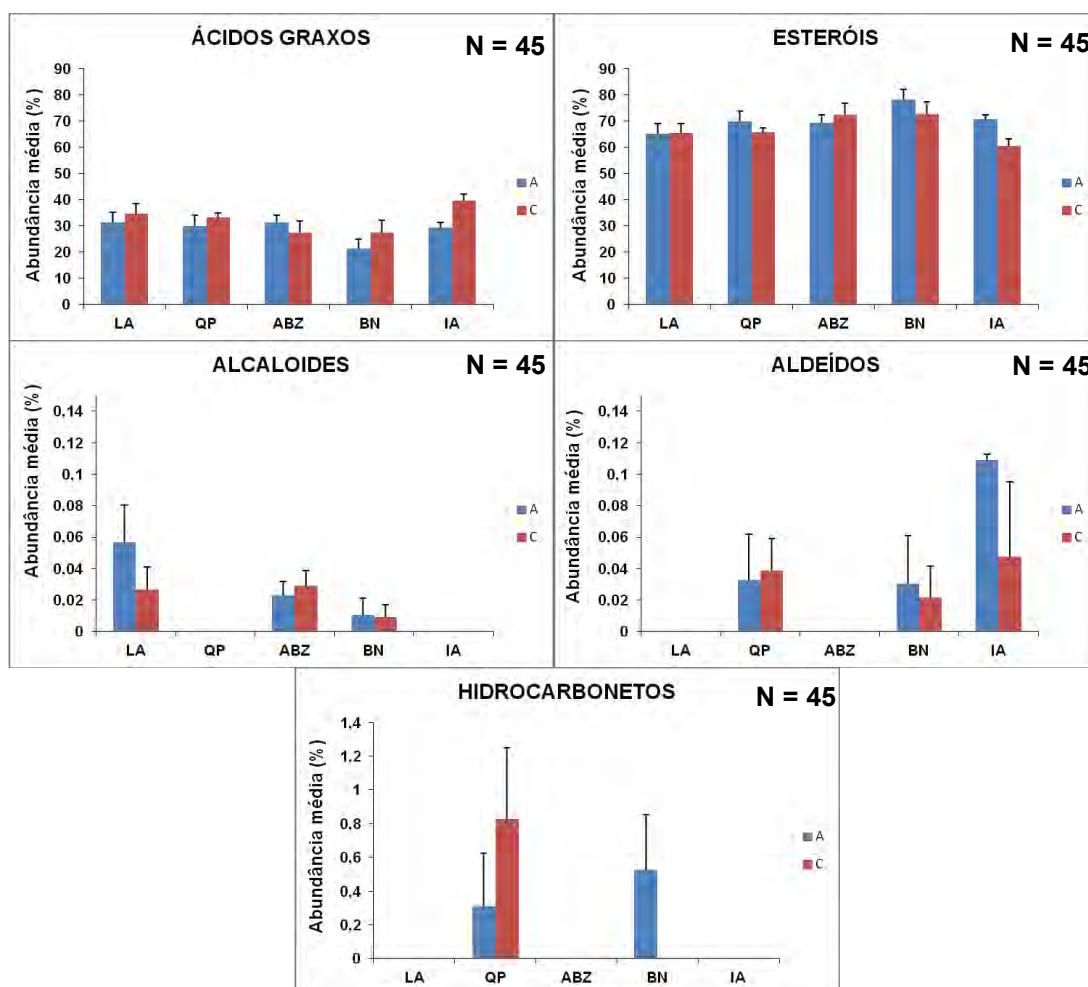
Figura 19 - Estrutura molecular do hexadecanoico



Ao comparar a abundância média (%) de todas as classes, nas populações de *D. anchorata* dos diferentes locais e entre as regiões das colônias (extremidade e base) podemos observar que os ácidos graxos apresentaram uma distribuição

uniforme (Fig. 20 e Anexo B). Os esteróis também mostraram esta característica, porém tiveram abundâncias maiores em todas as amostras (Fig.20 e Anexo B). É possível notar uma relação entre essas duas classes, tanto em relação aos locais, quanto nas diferentes regiões da esponja; esta resposta fica mais clara de observar nas abundâncias do local Bananal (BN), que são menores para os ácidos graxos e maiores para os esteróis. A significância das relações será mostrada mais adiante.

Figura 20 - Abundância média (%) e erro padrão (\pm) das classes metabólicas nas amostras intra e interpopulacionais de *D. anchorata* por locais de estudo.



Legenda: LA- Lagoa Azul; QP- Queimada Pequena; ABZ- Abraãozinho; BN- Bananal; IA-Ilha do Abraão; A- região de base e C- região de extremidade da esponja *D. anchorata*.

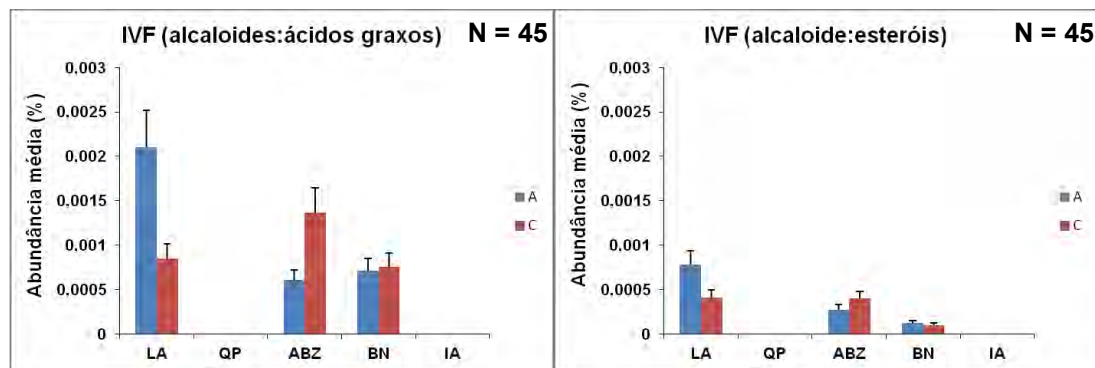
Os alcaloides apresentaram uma variação entre Abraãozinho (ABZ) e Lagoa Azul (LA) (Fig. 20 e Anexo B). O primeiro local mostrou maior abundância de substâncias dessa classe nas regiões de extremidade, enquanto que colônias do segundo local (Lagoa Azul) concentraram os alcaloides na região de base.

Os aldeídos foram identificados nas colônias da Ilha do Abraão (IA), Queimada Pequena (QP) e Bananal (BN) (Fig. 20 e Anexo B). A Ilha do Abraão apresentou as maiores abundâncias de substâncias desta classe, sendo a base das colônias a região de maior concentração de aldeídos.

Os hidrocarbonetos só foram identificados em dois locais de estudo, Queimada Pequena (QP), com maior abundância na região de extremidade das colônias, e Bananal (BN), com maior concentração na base da colônia (Fig. 20 e Anexo B).

Os Índices de Variações Fisiológicas (IVF) apresentaram maior valor de razão quando os alcaloides são relacionados aos ácidos graxos, do que quando relacionados aos esteróis. Este resultado pode ser um indicativo de que há um maior desvio de recursos da produção de ácidos graxos para síntese de alcaloides. (Fig. 21 e Anexo C). Abraãozinho apresentou maiores razões na região de extremidade da colônia de *D. anchorata*, tanto na relação de alcaloides e ácidos graxos, quanto entre alcaloides e esteróis. Já as colônias da Lagoa Azul apresentaram resultados inversos, maiores razões na região basal das esponjas. Esses resultados corroboram os observados anteriormente para abundância de alcaloides.

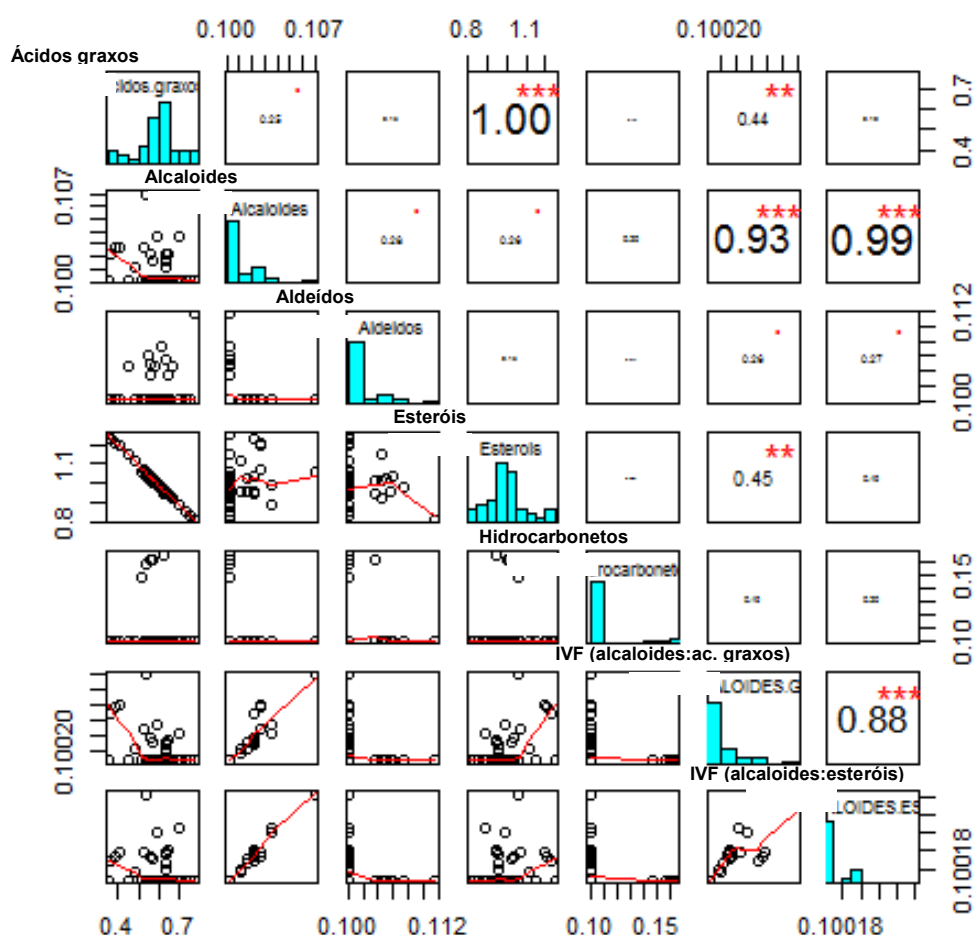
Figura 21 - Índices de Variações Fisiológicas (alcaloides: ácidos graxos e alcalóides: esteróis) nas amostras intra e interpopulacionais de *D. anchorata* por locais de estudo.



Legenda: LA- Lagoa Azul; QP- Queimada Pequena; ABZ- Abraãozinho; BN- Bananal; IA-Ilha do Abraão; A- região de base e C- região de extremidade da esponja *D. anchorata*.

As análises de Correlação de Pearson confirmaram estatisticamente as relações relatadas anteriormente. Ao todo, seis correlações foram observadas: duas negativas e quatro positivas (Fig. 22). As negativas ocorreram entre os ácidos graxos e esteróis ($P= 1.00$; $p=0.0001$) e entre os ácidos graxos e IVF (alcaloide:ácido graxo) ($P=0.44$; $p=0.001$). As positivas aparecem entre os alcaloides e IVF (alcaloide:ácido graxo) ($P=0.93$; $p=0.0001$), alcaloide e IVF (alcaloide:esteróis) ($P=0.99$; $p=0.0001$), esteróis e IVF (alcaloide:ácido graxo) ($P=0.45$; $p=0.001$) e entre os IVF (alcaloide:ácido graxo) e IVF (alcaloide:esteróis) ($P= 0.88$; $p=0.0001$).

Figura 22 - Matriz gráfica de Correlação de Pearson entre as classes de substâncias nas amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata*.



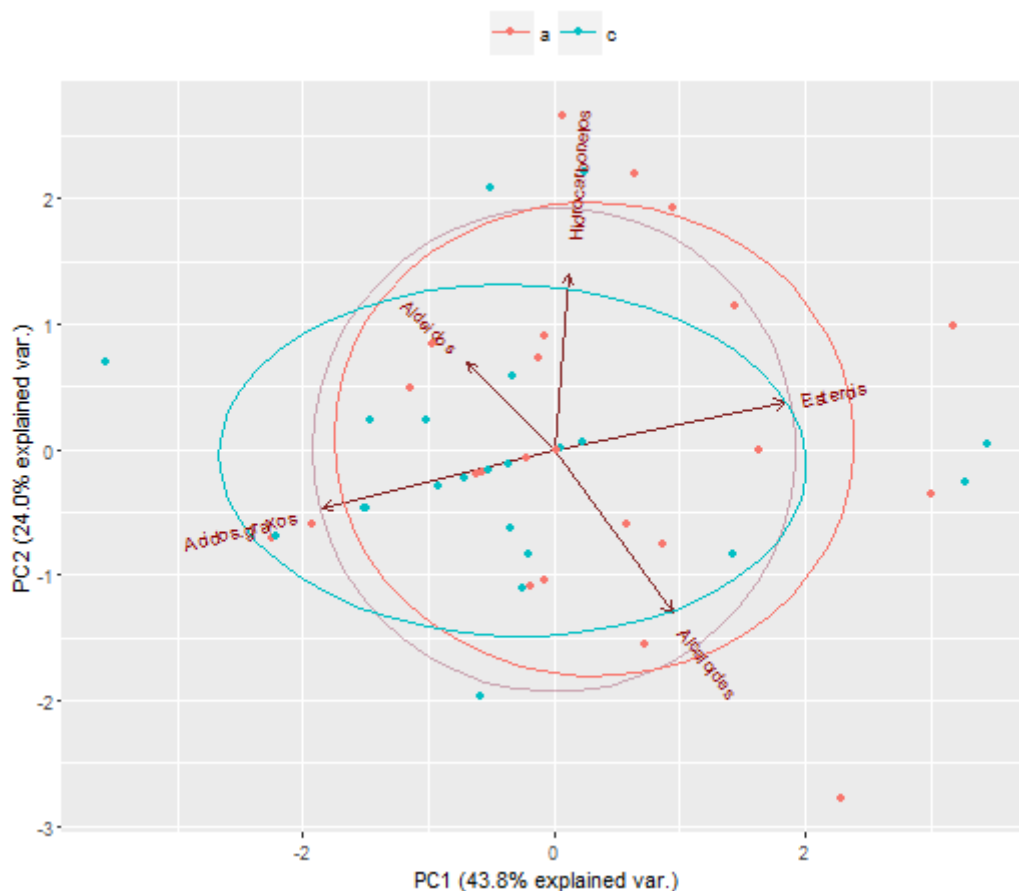
Legenda: A diagonal central corresponde aos fatores testados. Cada gráfico abaixo da diagonal central, representa uma relação entre a combinação de fatores. O eixo vertical dos gráficos corresponde ao fator que está na coluna e o eixo horizontal ao fator da linha. As imagens acima da diagonal central, indica os níveis de significância dos testes. * = 0,01 ; ** = 0,001 ; *** = 0.0001.

De acordo com a Análise dos Componentes Principais (PCA) não foi possível observar diferença entre as regiões basais e a extremidades das colônias de *D. anchorata* (Fig.23). As amostras obtidas da base das colônias mostraram-se bem distribuídas em relação às classes de substâncias (eixos horizontal e vertical); já as amostras obtidas da extremidade das colônias, apresentaram maior composição de ácidos graxos e esteróis. Os Eixos PC1 e PC2 explicam 68% da variação dos dados (Tab. 4).

Tabela 4 - Importância dos componentes (eixos-PC) na Análise de componentes principais (PCA) das amostras intrapopulacionais de *D. anchorata*.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Desvio padrão	1.48	1.09	1.01	0.77	0.01
Proporção de variância	0.44	0.24	0.20	0.12	0.00
Proporção acumulada	0.44	0.67	0.88	1.00	1.00

Figura 23 - Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção das diferentes classes de substâncias encontradas para variação intracolônial de *D. anchorata*.

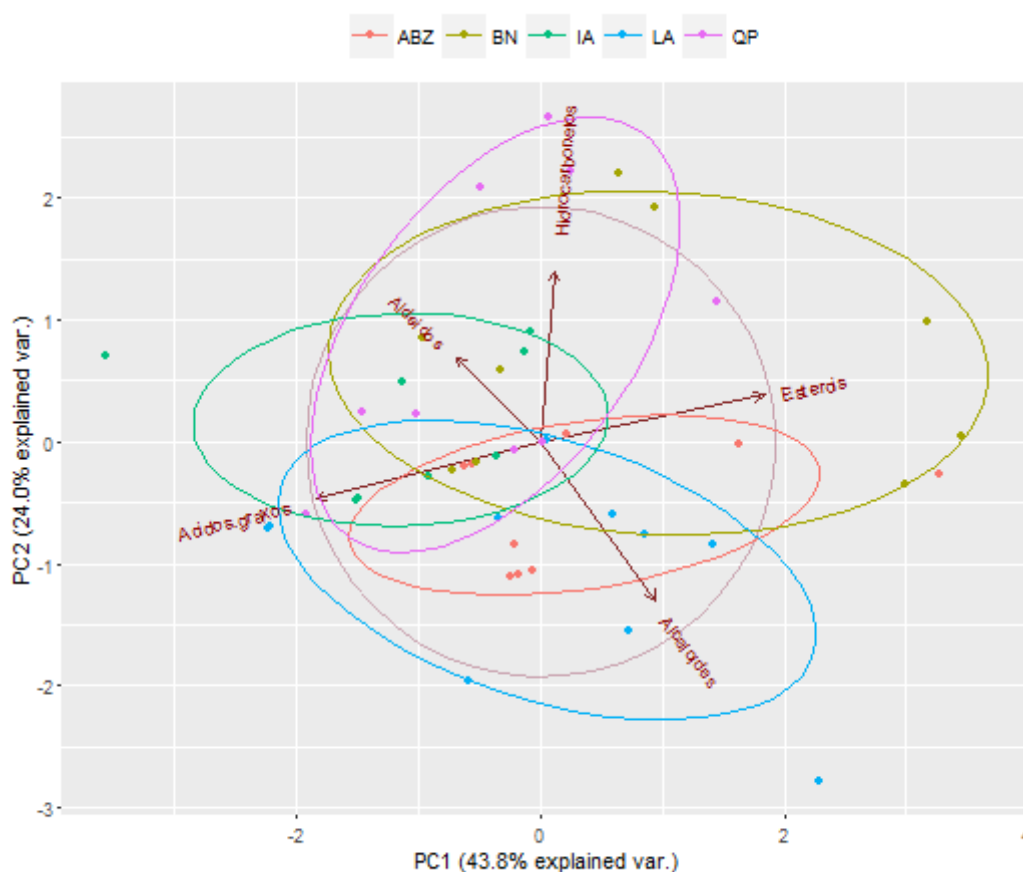


Legenda: Elipses coloridas indicam a variação das amostras (A- região de base e C- região de extremidade) em relação as variáveis (classes de substâncias). O círculo central corresponde ao *equilibrium circle*, substâncias que contribuem significativamente para a ordenação possuem vetores que extrapolam os limites deste círculo.

Em relação a variação interpopulacional, também não foi possível observar um padrão de organização das amostras por locais de estudo (Fig. 24). De forma geral, as amostras de Abraãozinho (ABZ) se concentraram próximo ao eixo ácido graxo-esteróis (horizontal), indicando maior variação dessas classes nesse local. Já Bananal (BN) apresentou maior influencia dos esteróis e hidrocarbonetos. Enquanto as amostras da Ilha do Abraão mostraram maior variação de ácidos graxos e aldeídos, este foi o local que apresentou menores abundância de esteróis (Anexo B). Lagoa Azul (LA), foi o local com maiores abundâncias de alcaloides e ácidos graxos.

Por último, Queimada Pequena (QP) foi o local que apresentou maior variação entre ácidos e graxos e hidrocarbonetos.

Figura 24 - Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para variação interpopulacional de *D. anchorata*.



Legenda: Elipses coloridas indicam a variação das amostras (Locais: ABZ- Abraãozinho, BN – Bananal; IA- Ilha do Abraão; LA- Lagoa Azul e QP- Queimada Pequena) em relação as variáveis (classes de substâncias). O círculo central corresponde ao *equilibrium circle*, substâncias que contribuem significativamente para a ordenação possuem vetores que extrapolam os limites deste círculo.

1.6 Discussão

Desmapsamma anchorata é uma espécie de esponja marinha comum da costa brasileira que apresenta altas taxas de crescimento (HAJDU *et al.*, 2011), e produz uma diversidade de metabólitos secundários, principalmente esteróis

(QUIJANO *et al.*, 1994) e ácidos graxos (CARBALLEIRA e MALDONADO, 1988; CARBALLEIRA e SHALABI, 1994; FLEURY *et al.* 2008b; PETRONILHO, 2008).

Nas amostras analisadas no presente estudo, também foi observado grandes concentrações de substâncias pertencentes a estas classes. Altas abundâncias de colest-5-en-3 β -ol (colesterol), (22E,24S)-24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (estigmasterol), (22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassicasterol), Estigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol), éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico e do éster metílico do ácido hexadecanoico, também foram encontradas em indivíduos de *D. anchorata* do Caribe (QUIJANO *et al.*, 1994; CARBALLEIRA e MALDONADO, 1988; CARBALLEIRA e SHALABI, 1994; PETRONILHO, 2008). As classes de aldeídos e alcaloides também foram observadas nos extratos orgânicos de *D. anchorata*. Substâncias destas classes já haviam sido descritas para a espécie por Carballeira e Shalabi (1994) e Compagnone *et al.* (1999), respectivamente.

Comparando as abundâncias de cada classe de substâncias por locais e por região do corpo (base e extremidade), houve uma distribuição uniforme de ácidos graxos e esteróis nas diferentes amostras. Essas duas classes apresentaram uma correlação negativa significativa. Essa relação pode estar associada às vias biossintéticas que originam essas substâncias, a síntese de esteróis (via mevalonato) é dependente da ramificação da via principal (via do ácido acético), que produz os ácidos graxos (TEXEIRA, 2009). Desta forma, um desvio para síntese de esteróis, reduz a disponibilidade do precursor para sintetizar os ácidos graxos. Este mudança de rota sintética tem implicações na história de vida e sobrevivência da espécie, pois os ácidos graxos desempenham importante função estrutural na composição de membranas celulares, e também como material de reserva em alguns casos (TEIXEIRA, 2009; FLEURY *et al.* 2000; 2006); enquanto que os esteróis além de funções estruturais e fisiológicas, podem atuar também na defesa química dos organismos (FLEURY *et al.*, 2008a; MORINAKA *et al.*, 2009; RIBEIRO, 2012), como anti-incrustante (GUENTHER *et al.*, 2009), na sinalização química para reprodução (FINE e SORENSEN, 2008), como alelopáticos (LAGES *et al.*, 2010a; 2010b; 2012).

Diferenças na abundância de alcaloides foram observadas entre o Abraãozinho (região de extremidade da colônia) e Lagoa Azul (região de base). Os

índices de variações fisiológicas também mostraram maiores razões nestes locais de estudos, indicando um desvio na produção de ácidos graxos e esteróis para síntese de alcaloides. A concentração de alcaloides na extremidade das colônias de *D. anchorata* do Abraãozinho pode ser induzida pela grande competição por espaço com outras espécies.

Abraãozinho possui uma comunidade bentônica com grande abundância de *P. caribaeorum*, alga calcária incrustante e *T. coccinea*. O cnidário *P. caribaeorum* é considerado um grande competidor, apresentando uma das maiores taxas de crescimento entre os zoantídeos (SUCHANEK e GREEN, 1981). Já as algas calcárias incrustantes, geralmente eram recobertas por ouriços (não contabilizados no capítulo anterior por serem organismos sedentários, sendo somente as espécies sésseis monitoradas). Diversos estudos classificam os ouriços do mar como espécies espongiívoras, estando associados à redução da diversidade e cobertura de esponjas (VANCE, 1979; BURNS *et al.*, 2003). Silva (2014) associou a mortalidade em massa de colônias *D. anchorata* no Abraãozinho ao aumento maciço na população de ouriços no local. Enquanto que *T. coccinea* é uma espécie invasora, amplamente distribuída na Baía da Ilha Grande, onde compete por espaço com espécies nativas (DE PAULA e CREED, 2004, 2005; CREED, 2006). Estudos relacionados com a interação entre *D. anchorata* e os corais invasores *Tubastraea* spp. mostraram que esta esponja compete com os corais por espaço (DE PAULA, 2007; MEURER *et al.*, 2010), utilizando da estratégia de sobrecrecimento (DE PAULA, 2007; LAGES *et al.* 2012; SILVA, 2014), não sendo afetada pelos corais (DE PAULA, 2007), além de induzirem a produção de defesa química nos mesmos (LAGES *et al.*, 2012).

Na Lagoa Azul foi observada dominância de algas formadoras de tapete (86%) (ver capítulo 1), resultando em menores níveis de competição, quando comparado à Abraãozinho. Resultado semelhante foi observado por Becerro e colaboradores (1997) com a esponja *Crambe crambe*, que produzia menos alcaloides tóxicos em ambientes com maior abundância de algas, comparada ao habitat dominado por outras espécies incrustantes. Neste estudo eles concluíram que a competição foi a chave para a variação metabólica na espécie.

Além disso, as colônias presentes no costão de Abraãozinho apresentaram formas mais ramificadas; quando comparadas as da Lagoa Azul, que eram mais incrustantes (observação pessoal). Essa variação nas formas pode ter relação com a variação na concentração de alcaloides entre as regiões basais e de extremidades nestes dois locais. A influência de fatores abióticos, como salinidade, temperatura e visibilidade da água também não podem ser descartados. Durante o estudo, Abraãozinho apresentou visibilidade reduzida e grande sedimentação, enquanto que Lagoa Azul possui águas claras e cristalinas, com grande visibilidade, dando origem ao nome do lugar (observação pessoal).

Os poríferos são fontes importantes de alcaloides, com uma diversidade de atividades biológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2004; BERLINCK, 2007; FATTORUSSO e TAGLIALATELA-SCAFATI, 2008; ; MEHBUD *et al.*, 2014; SANTOS, 2014). Do ponto de vista ecológico, os alcaloides apresentam diversas funções, como defesa antipredação (PAWLIK *et al.*, 1995 ; BECERRO *et al.*, 1997; LINDEL *et al.*, 2000; THOMS *et al.*, 2004; BERLINCK, 2007), antincrustante (BECERRO *et al.*, 1997; KELLY *et al.*, 2003; ASSMANN *et al.*, 2004; BERLINCK, 2007), antimicrobiano (TORRES *et al.*, 2002; ASSMANN *et al.*, 2004; THOMS *et al.*, 2006; BERLINCK, 2007) e na competição por espaço (BECERRO *et al.*, 1997; BERLINCK, 2007). Neste estudo, identificamos nas colônias de *D. anchorata* prováveis presenças dos alcaloides 1-H-indol-3-carboxílico e hexahidro-3-(2-metilpropil)-pirrol[1,2- α -pirazina-1,4-diona. No entanto, o único alcaloide descrito na literatura com atividade biológica, até o momento para esta espécie, foi o 5-alkilpirrol-2-carboxaldeido, com atividade leishmanicida fraca (COMPAGNONE *et al.*, 1999); porém, sua atividade ecológica não foi investigada.

Apesar das variações metabólicas discutidas acima, não foi observado nas análises de PCA um padrão de separação entre as amostras da base e extremidade das colônias de *D. anchorata*. Freeman e Gleason (2012) também observaram em *Ircinia campana* uma distribuição homogênea de compostos por todo corpo. No entanto, normalmente em esponjas, as defesas metabólicas se acumulam em regiões mais externas do corpo, em estruturas específicas, como células diferenciadas, glândulas e vacúolos (THOMPSON *et al.*, 1983; BECERRO *et al.*, 1997; STEINBERG e DE NYS, 2002). Um exemplo são as esponjas do gênero

Aplysina sp, que concentram compostos bromados em células da região ectossomal (TURON *et al.*, 2000; CRONIN, 2001; FREEMAN e GLEASON, 2012). *Crambe crambe* também acumula alcaloides tóxicos em células de tecidos externos (BECERRO *et al.*, 1997).

Um resultado inverso também pode ser encontrado. Algumas espécies marinhas podem concentrar metabólitos defensivos em tecidos mais internos do corpo, como é o caso da esponja *Ircinia felix* (FREEMAN e GLEASON, 2012) e da alga vermelha *Laurencia obtusa* (SUDATTI *et al.*, 2008). Porém, algumas estratégias de defesas químicas podem ser verificadas nas macroalgas. Elas apresentam sistemas de canais, semelhantes aos vegetais superiores, que as possibilitam transportar os metabólitos da região interna para os tecidos mais externos, quando necessário (STEINBERG e DE NYS, 2002; SUDATTI *et al.*, 2008).

A variação metabólica entre partes da mesma colônia está fundamentada na Hipótese de Defesa Ótima, na qual o organismo concentra as defesas químicas em regiões do corpo mais susceptíveis à predação e competição, como partes externas e reprodutivas (estágios larvais) (CRONIN, 2001).

No presente estudo também não foi constatada diferenças metabólicas significativas entre as diferentes populações de *D. anchorata*. Ribeiro (2008) também não observou variação metabólica referente ao gradiente latitudinal ao estudar quatorze espécies de esponjas marinhas do Atlântico Sul, Atlântico Norte e Mediterrâneo. Porém variação química foi observada em escalas espaciais menores, como por exemplo, a variação quantitativa de compostos secundários em *Aplysina aerophoba*, a partir de locais com 500m de distância (SACRISTAN-SORIANO *et al.*, 2011). Abdo e colaboradores (2007) também observaram variação na concentração de salicililalamida produzida pela esponja *Haliclona* sp. coletadas em uma área de 1200km na costa oeste da Austrália. Page e colaboradores (2005) verificaram a variação de compostos citotóxicos em *Mycale hentscheli* em um pequeno gradiente latitudinal na Nova Zelândia.

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo *D. anchorata* não apresentou variação metabólica intra e interpopulacional significativa, não corroborando a Hipótese de Defesa Ótima.

1.7 Conclusão

- O esteroi colest-5-en-3 β -oi (coiesteroi) e o éster metílico do áciio 5,9-hexacosadieniico foram as substâncias majoritárias nos extratos brutos de *D. anchorata*.
- Os ácidos graxos e esteróis presentes nas amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata* apresentaram correlação negativa significativa.
- *D. anchorata* apresentou variação na concentração de alcaloiides entre as regiões de base e de extremidade das colônias do Abraãozinho e Lagoa Azul, porém não significativa.
- As amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata* não apresentaram variações metabólicas significativas.

2. VARIAÇÃO METABÓLICA TEMPORAL DA ESPONJA MARINHA *Desmapsamma anchorata*

2.1 Introdução

A produção de substâncias químicas (metabólitos secundários) é uma característica importante das esponjas marinhas, considerando a aparente ausência de proteção física e por serem organismos sésseis (PAWLIK, 1993). Essas substâncias podem auxiliar no processo de reprodução, na defesa contra predadores, patógenos, competidores, epibiose, entre outros (BLUNT *et al.*, 2015).

Produzir metabólitos secundários pode ser um processo custoso para o organismo, pois resulta na economia de recursos energéticos de outras funções importantes, como por exemplo, crescimento, reprodução e manutenção do organismo (CRONIN, 2001). Além da produção, o transporte, armazenamento e manutenção das defesas químicas também requerem gastos de energia.

Diversos autores investigaram a alocação de recursos para produção metabólica em poríferos (WALTERS e PAWLIK, 2005; PAWLIK *et al.*, 2008; LEONG E PAWLIK, 2010). Um exemplo, é o estudo realizado com a esponja *Crambe crambe* que verificou a existência de correlação negativa entre a produção de defesa química e o crescimento e reprodução. A concentração de metabólitos secundários desta esponja foi maior em ambiente com grande competição por espaço (BECERRO *et al.*, 1995 e 1997), evidenciando a necessidade de síntese de metabólitos.

Fatores ambientais, como a sazonalidade e fatores abióticos, também podem ter relação com a síntese de defesa química. Abdo e colaboradores (2007) observaram maior produção da salicililalamida A pela esponja *Haliclona* sp., no período de verão. Outras esponjas também apresentaram uma variação metabólica sazonal (TURON *et al.*, 1998; FERRETI *et al.*, 2009; IVANISEVIC *et al.*, 2011), indicando que a síntese de defesa química pode ser influenciada por características da água, como temperatura e composição química.

As esponjas marinhas podem ser classificadas em: Defendidas, que são tóxicas para os consumidores, por produzirem metabólitos secundários; Palatáveis, que não produzem defesas químicas e possuem alta tolerância à predação, sendo

abundantes nos recifes; e Preferidas, que são indefesas quimicamente e apresentam baixa tolerância ao consumo, sendo encontradas somente em habitat de refúgio (PAWLIK *et al.*, 1995; PAWLIK, 1997,1998; PAWLIK *et al.*, 2011).

D. anchorata foi classificada como uma espécie de transição entre preferida e palatável nos recifes caribenhos (PAWLIK *et al.*, 2008; PAWLIK *et al.*, 2011), no entanto, a produção de defesas químicas já foi relatada para a espécie (CARBALLEIRA e MALDONADO, 1988; ATTA *et al.*, 1990 e QUIJANO *et al.*, 1994).

Devido à alta abundância de *D. anchorata* nos ambientes de costões rochosos da Baía da Ilha Grande e a competição com espécies nativas e invasoras (LAGES *et al.*, 2011 e 2012; SILVA, 2014), acredita-se que o sucesso no estabelecimento *D. anchorata* nas comunidades bentônicas é resultante de um balanço entre o crescimento e a produção metabólica.

Desta forma, o presente estudo buscou avaliar a possível existência de um mecanismo de compensação (*trade-off*) entre crescimento e produção metabólica pela *D. anchorata*, ao longo do tempo.

2.2Objetivos

- Avaliar se as taxas de crescimento e a produção metabólica pela esponja *D. anchorata* variam ao longo do tempo.
- Avaliar se existe um mecanismo de compensação (*Trade-off*) entre a variação metabólica e variação nas taxas de crescimento da *D. anchorata*.

2.3Hipóteses

- Há variação temporal do crescimento e da produção metabólica pelas colônias de *D. anchorata*.
- O crescimento da *D. anchorata* está relacionado à diminuição da produção de metabólitos secundários para defesa, sugerindo um mecanismo de compensação

(*Trade-off*) entre esses processos, conforme prediz as Hipóteses de Defesa Ótima e de Balanço crescimento-diferenciação.

2.4 Materiais e métodos

2.4.1 Crescimento

Para avaliação da variação metabólica temporal, vinte colônias de *D. anchorata*, com área de 25,14 cm² (\pm 7,75) foram transplantadas do seu ambiente natural para as placas de acrílico (20 x 20 cm), e estas foram fixadas com lacres plásticos em blocos de concreto (10X20X40 cm) (Fig. 25). Os blocos foram distribuídos no costão de Abraãozinho, paralelamente ao costão rochoso, entre dois e três metros de profundidade.

Figura 25 - Transplante de parte de colônias da esponja *D. anchorata* para placa de acrílico sobre bloco de concreto em Abraãozinho, BIG.



Foto: A autora, 01/08/14.

As esponjas foram monitoradas durante sete meses (agosto/2014 a fevereiro/2015), em intervalos de 0, 52, 94, 139 e 187 dias. Nestes períodos foram estimados os crescimentos das esponjas através de fotografia subaquática (Canon

PowerShot G1X) e da medição, em campo, da altura de cada indivíduo com paquímetro (maior altura). Com auxílio do software *Coral Point Count* com extensão Excel (CPCe 4.0) foi possível quantificar a área de cada organismo (cm²) (Fig. 26). O valor calculado foi multiplicado pelo valor da altura obtida em campo, para estimar o volume (cm³).

Figura 26 - Quantificação da área da esponja *D. anchorata* transplantada para placa de acrílico.



Legenda: Imagem da *Desmapsamma anchorata* contornada em cinza com o valor da área (cm²) ao centro estimado pelo software CPCe. Foto: A autora, Dez/14.

As taxas diárias de crescimento em volume de *D.anchorata* foram estimadas ajustando ao modelo exponencial:

$$V_t = V_0 e^{(kt)}$$

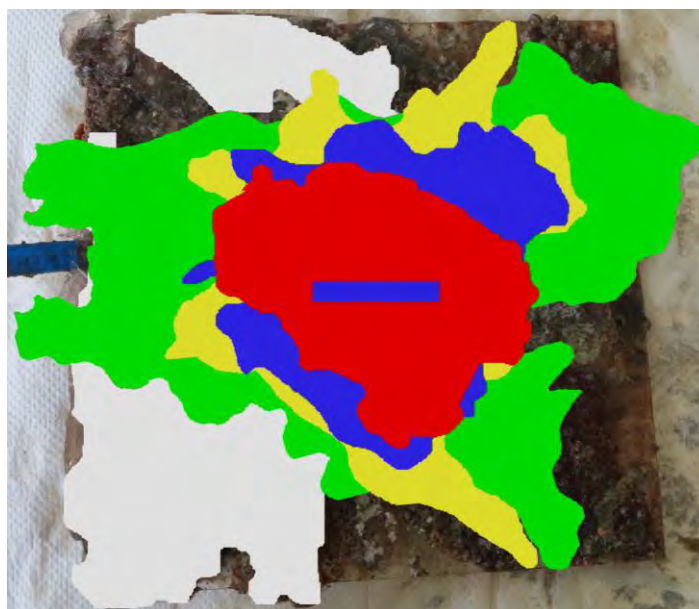
Onde, V_t e V_0 são os volumes no tempo t e no tempo zero, respectivamente, t é o tempo em dias e k é a taxa de crescimento em volume.

As taxas de crescimento individuais foram categorizadas em: negativo, baixo (menor que 0,10cm³), intermediário (entre 0,11cm³ e 0,30cm³), alto (maior que 0,30cm³). Algumas amostras não foram encontradas no dia do monitoramento,

devido a pouca visibilidade da água, e por isso não tiveram seu crescimento estimado. Estas amostras foram nomeadas como “missing”.

Ao final do experimento as placas foram retiradas do campo, e imediatamente congeladas até o início da extração. Em laboratório, para identificar a região de crescimento de cada tempo (início do experimento (T0); 52 dias (T1); 94 dias (T2); 139 dias (T3); 187 dias (T4), o final do experimento), foi realizada a sobreposição de imagens de cada tempo de crescimento, com auxílio do software *photoshop* CS3, obtendo assim a região de crescimento em cada tempo (Fig. 27). As imagens finais com os “anéis de crescimento” foram então impressas em folha de acetato e colocadas sobre cada colônia, as amostras de cada tempo foram então cortadas com bisturi.

Figura 27- Imagens coloridas das diferentes regiões de crescimento da *Desmapsamma anchorata*, em placas de acrílico, após 187 dias (T4), final do experimento.



Legenda: Vermelho – início do experimento (T0), azul – 52 dias (T1), amarelo – 94 dias (T2), verde – 139 dias (T3) e cinza – 187 dias (T4), final do experimento. Foto: A autora, Mar/2015.

As amostras das colônias 45 no início do experimento (T0) e 50 com 139 dias (T3) foram retiradas das análises por representarem dados fora do padrão (*outline*).

2.4.2 – Extração dos metabólitos de *D. anchorata*

A extração das amostras e tratamento dos dados foram realizados seguindo a metodologia abordada no capítulo anterior, página 35. Os solventes utilizados para extração das amostras temporais foram diclorometano (DCM) e acetato de etila (AcOEt) na proporção de 1:1.

2.5 Resultados

2.5.1 Crescimento

O volume em cm³ foi estimado para quinze colônias de *D. anchorata* num período de 187 dias. Durante o experimento cinco placas foram perdidas em campo.

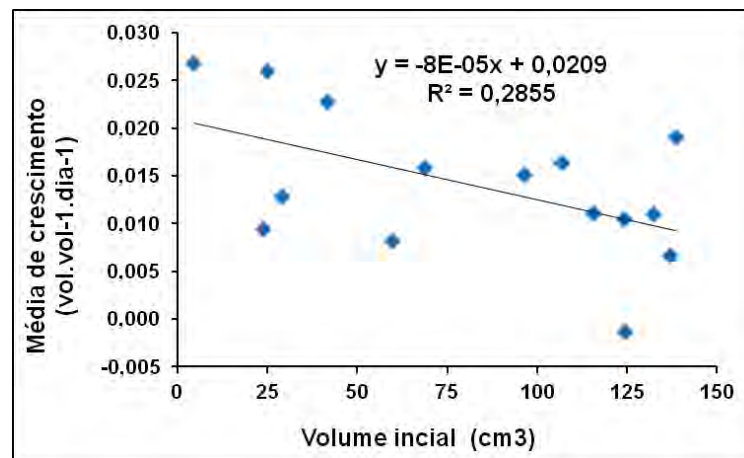
Durante todo o experimento, a maioria das esponjas apresentou crescimento positivo, quando comparadas ao seu volume inicial; apenas a esponja L69 mostrou um decréscimo de crescimento (Tab. 5). O volume de quatro indivíduos não pode ser estimado no monitoramento de 52 dias, devido à baixa visibilidade da água.

Tabela 5- Taxas de crescimento de *Desmaspasma anchorata* (cm³.cm⁻³.dia⁻¹).

Indivíduos	52 Dias	94 Dias	139 Dias	187 Dias	Média
L19	0,035	0,013	0,055	-0,065	0,009
L33	-0,017	0,085	-0,064	0,103	0,027
L35	-----	0,022	0,005	0,006	0,011
L36	-0,001	0,033	-0,010	0,044	0,016
L45	-----	0,023	0,013	0,021	0,019
L46	-0,013	0,039	0,013	0,021	0,015
L48	0,021	0,011	0,015	0,016	0,016
L50	0,011	0,050	-0,007	-0,010	0,011
L66	0,006	-0,008	0,017	0,018	0,008
L67	-----	-0,004	0,012	0,024	0,010
L69	-0,018	-0,005	0,001	0,016	-0,001
L79	-0,010	0,014	0,038	-0,016	0,007
L83	0,027	0,020	0,008	0,036	0,023
L89	0,031	0,022	0,008	-0,010	0,013
L93	-----	0,023	0,040	0,015	0,026
Média	0,007	0,023	0,010	0,015	0,013

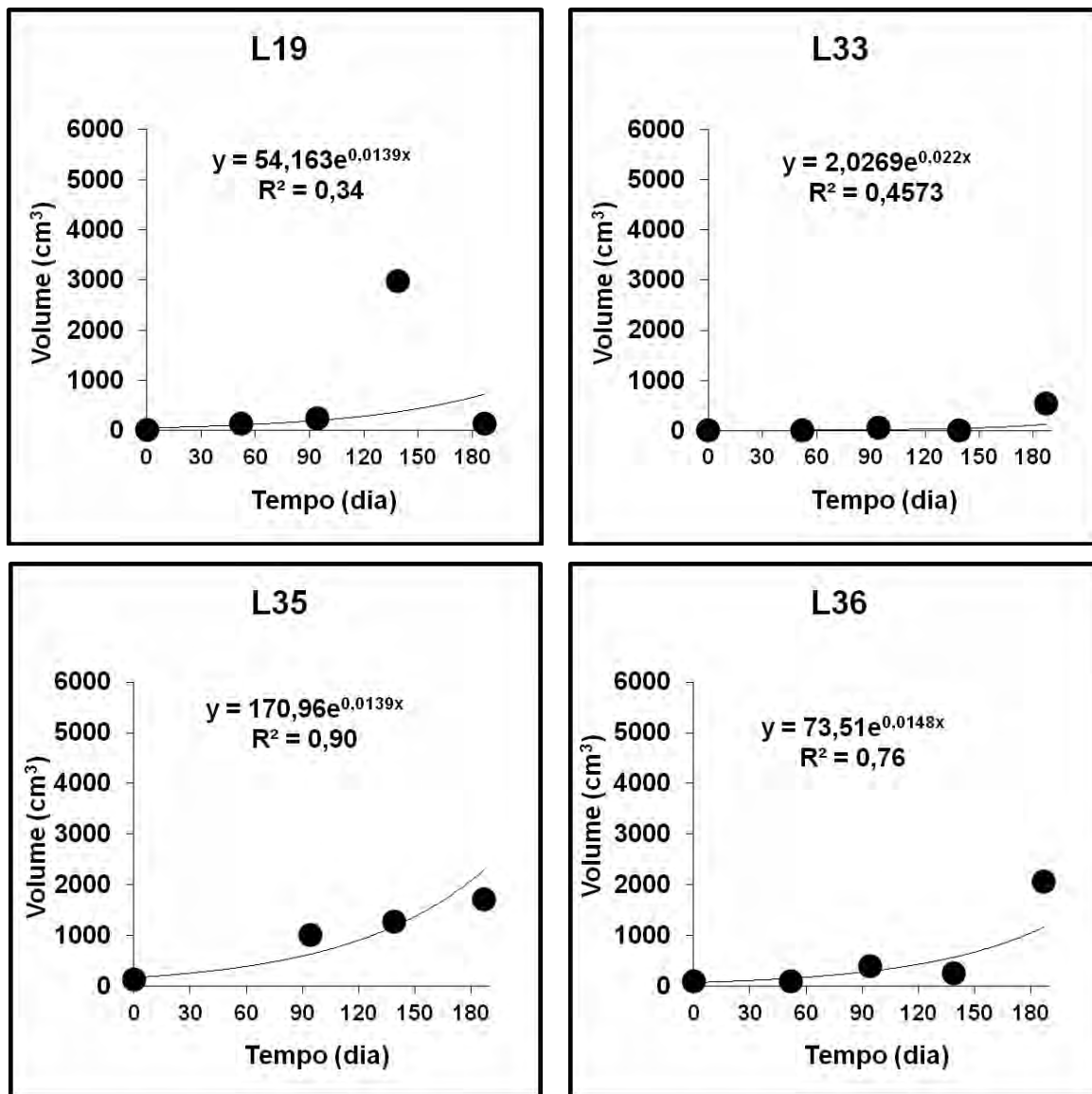
A taxa média de crescimento dos indivíduos, em $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, foi de 0,014 ($\pm 0,0027$), variando de -0,065 a 0,103. O período em que as esponjas transplantadas mais cresceram foi entre 52 e 94 dias (setembro a novembro). O volume inicial das esponjas transplantadas não apresentou relação ($R^2 = 0,28$) com as taxas médias de crescimento (Fig. 28).

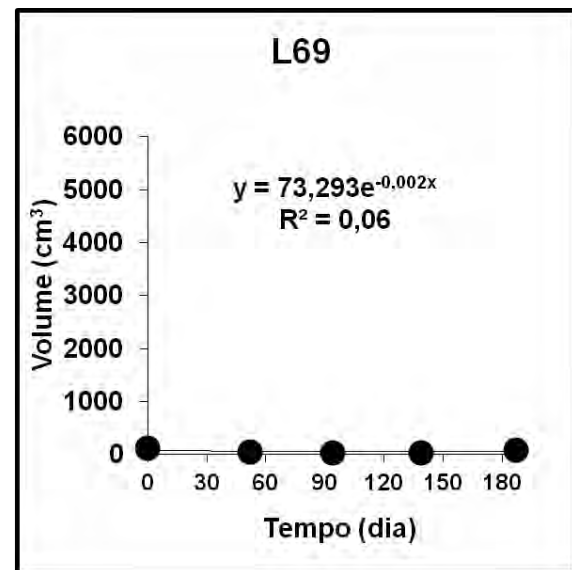
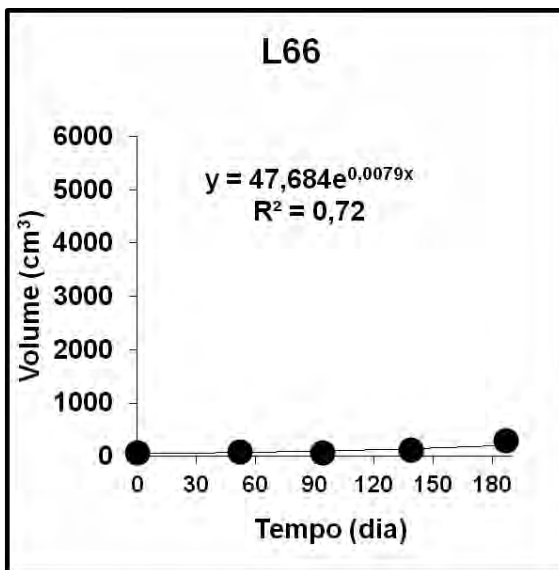
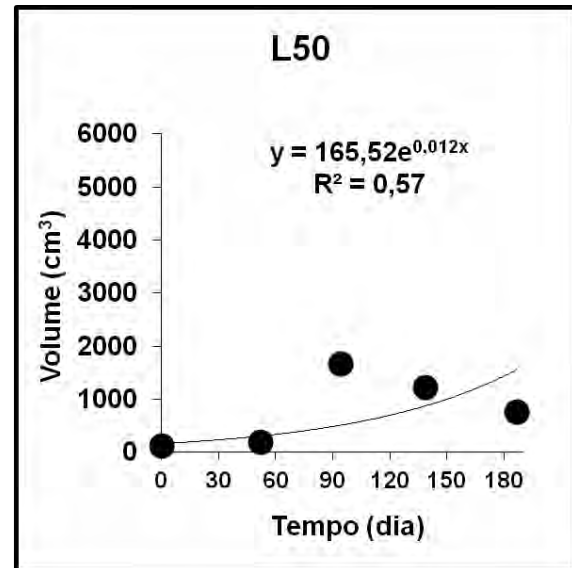
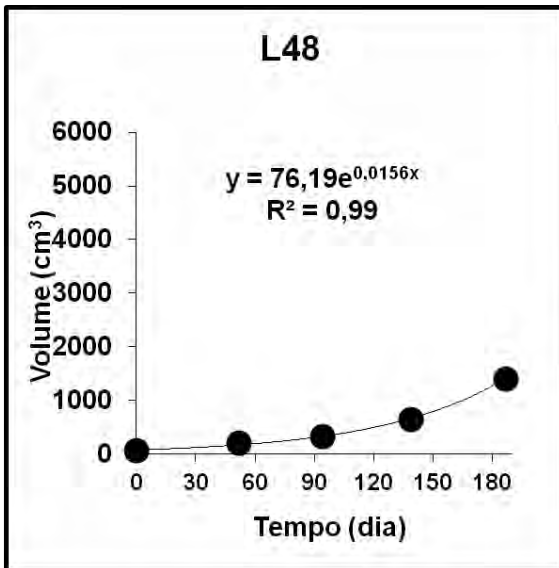
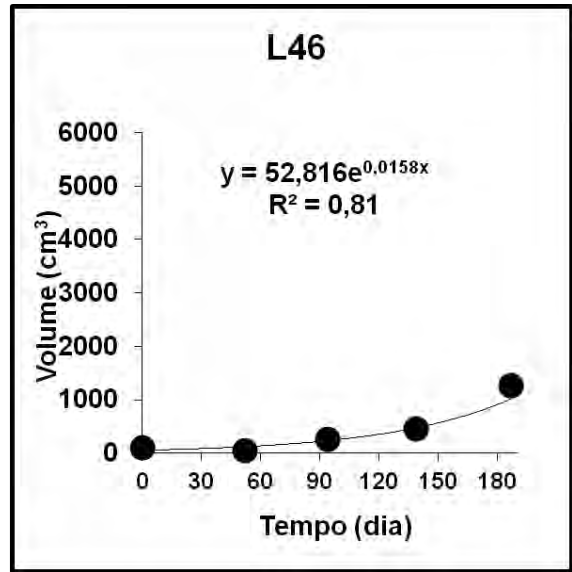
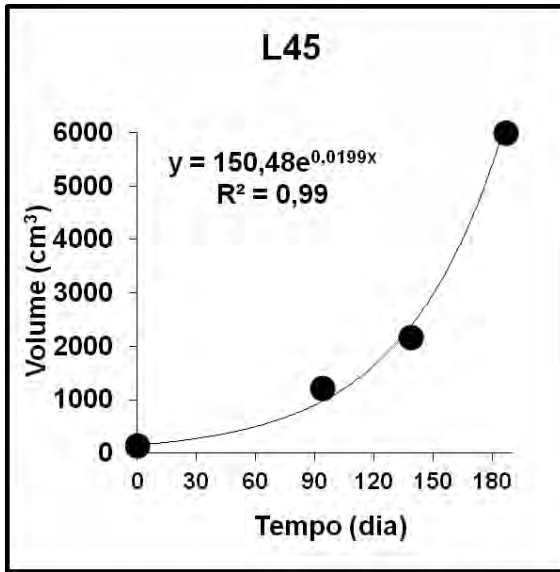
Figura 28 - Relação do volume inicial com as taxas médias de crescimento das esponjas *D. anchorata* transplantadas

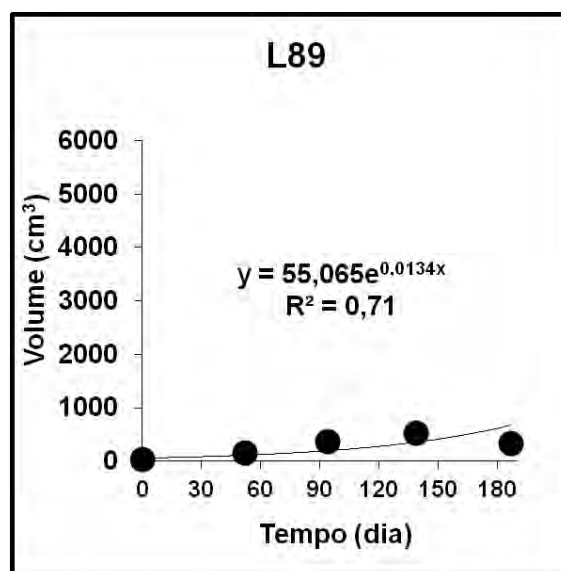
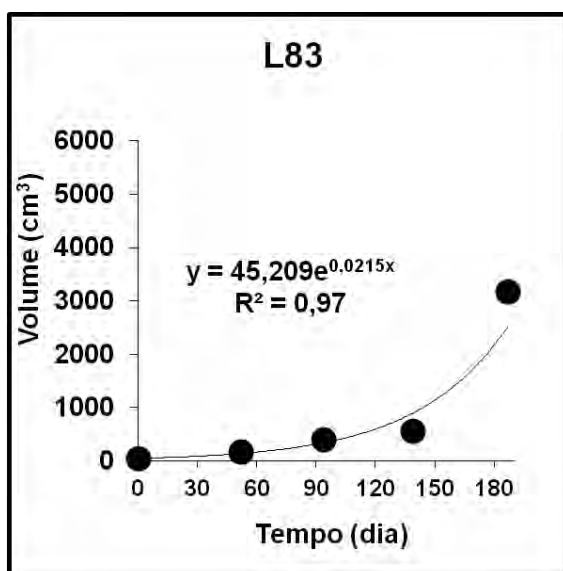
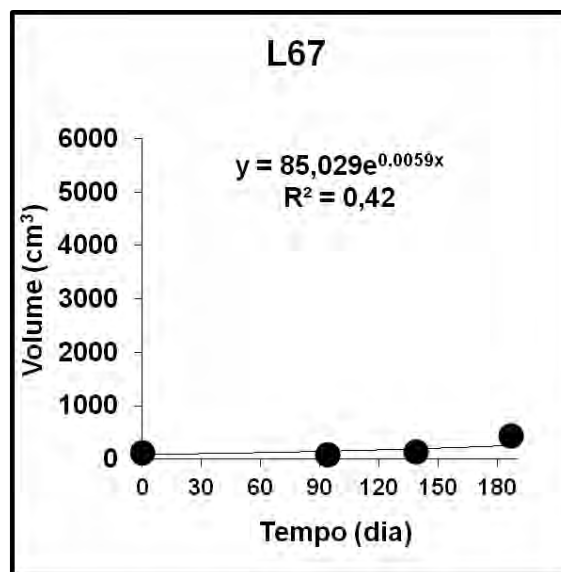
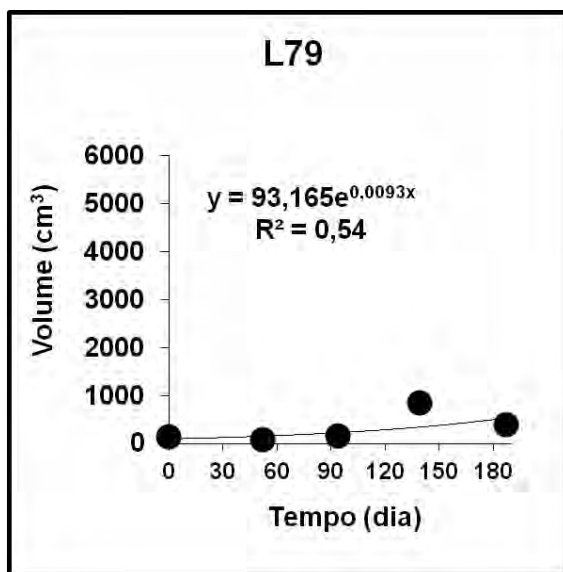


O crescimento de 67% ($n=10$) das esponjas monitoradas pode ser explicado pelo modelo exponencial, sendo ideal para 33% ($n=5$) ($R^2 \geq 0,90$) e razoável para outros 33% ($n=5$) dos indivíduos ($0,55 \leq R^2 \leq 0,89$) (Figura 29).

Figura 29 - Gráficos de crescimento exponencial das colônias de *D. anchorata* transplantadas e monitoradas ao longo de 187 dias, nas placas de acrílico, em Abraãozinho (BIG).







2.5.2 Variação metabólica

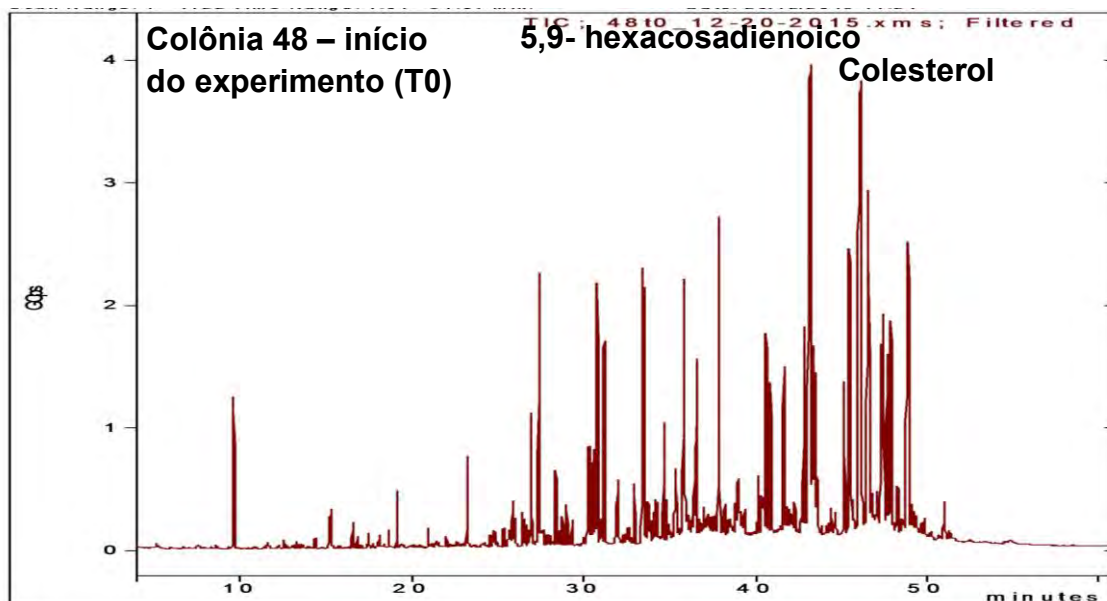
As análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM/EMAR) dos extratos brutos de *D. anchorata* permitiram identificar um total de 77 substâncias, pertencentes a cinco classes: ácidos graxos, aldeídos, alcaloides, alcoóis e esteróis. A maior abundância de substâncias foi observada na classe dos esteróis, seguido dos ácidos graxos, porém a diversidade foi maior neste último (Tab. 6).

Tabela 6 - Abundância média (%) e o número de substâncias das diferentes classes de substâncias identificadas nas colônias da esponja marinha *D. anchorata*, transplantadas para placas de acrílico, nos costões de Abraãozinho, BIG.

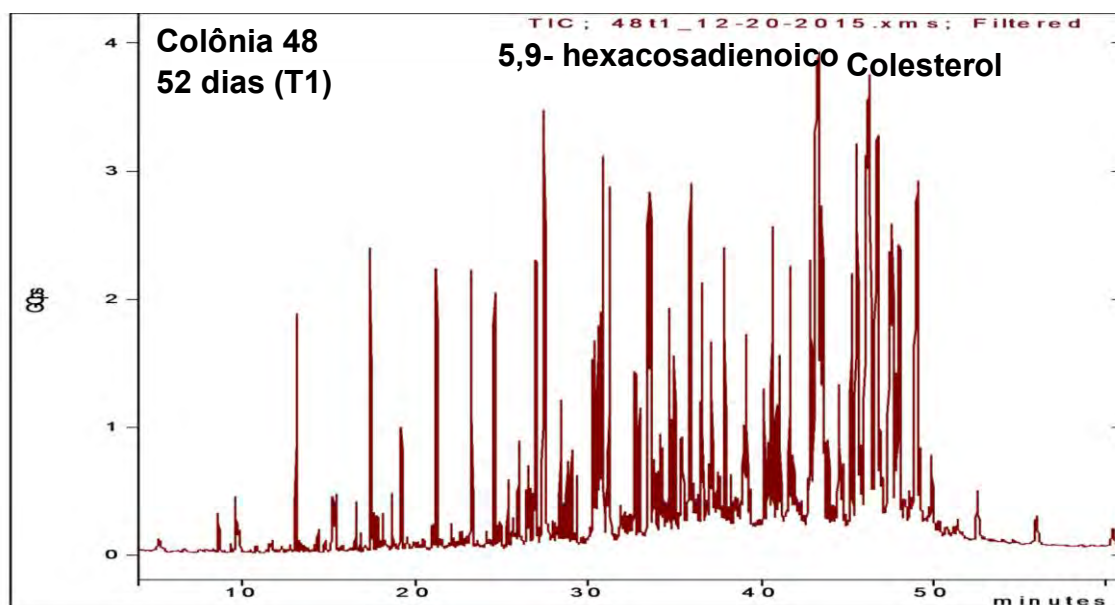
Classes de substâncias	Número de substâncias	Abundância média (%)
Ácidos graxos	47	44,33
Alcaloides	6	0,63
Álcoois	3	0,06
Aldeídos	3	0,02
Esteróis	18	54,96

As substâncias mais abundantes nas amostras analisadas foram o esterol colest-5-en-3 β -ol (colesterol) (S65 no Anexo D) (Figura 30) e o éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico (S58 no Anexo D), apresentando abundância média de 22% e 16%, respectivamente. Outras substâncias também merecem destaque pela sua alta abundância, como por exemplo, os esteróis (24S) estigmast-5-en-3 β -ol (γ -sitosterol) (9,19%), (22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassicasterol) (5,44%), e o éster metílico do ácido hexadecanoico (5,09%) (S71, S70 e S20 no Anexo D, respectivamente). As abundâncias das substâncias identificadas em cada amostra podem ser consultadas no Anexo D.

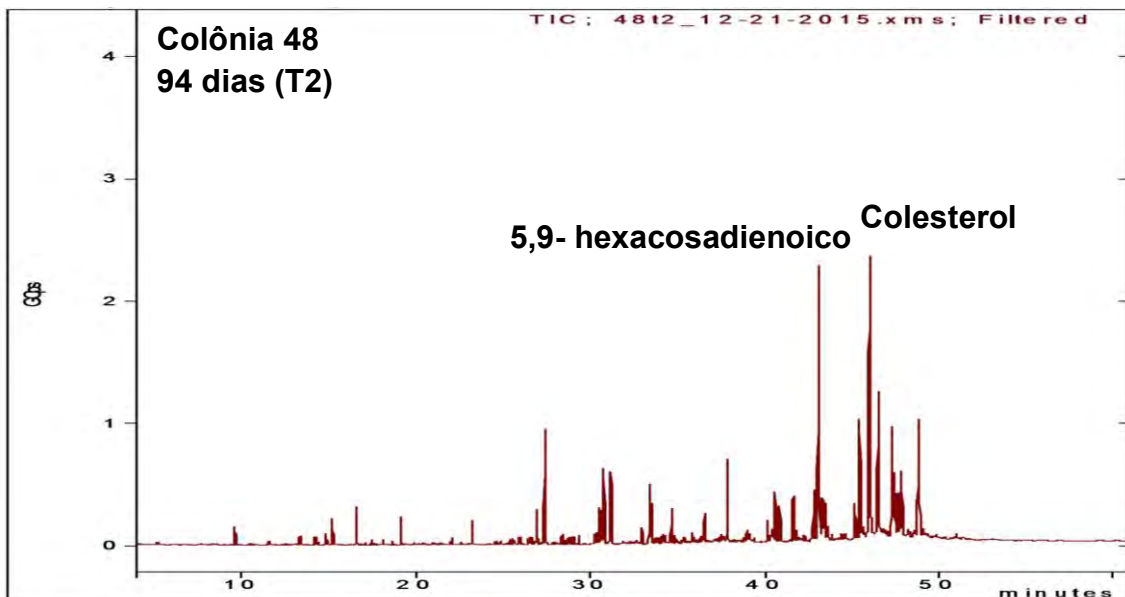
Figura 30 - Cromatogramas com as abundâncias de colesterol e do éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico nas amostras temporais de *D. anchorata*.



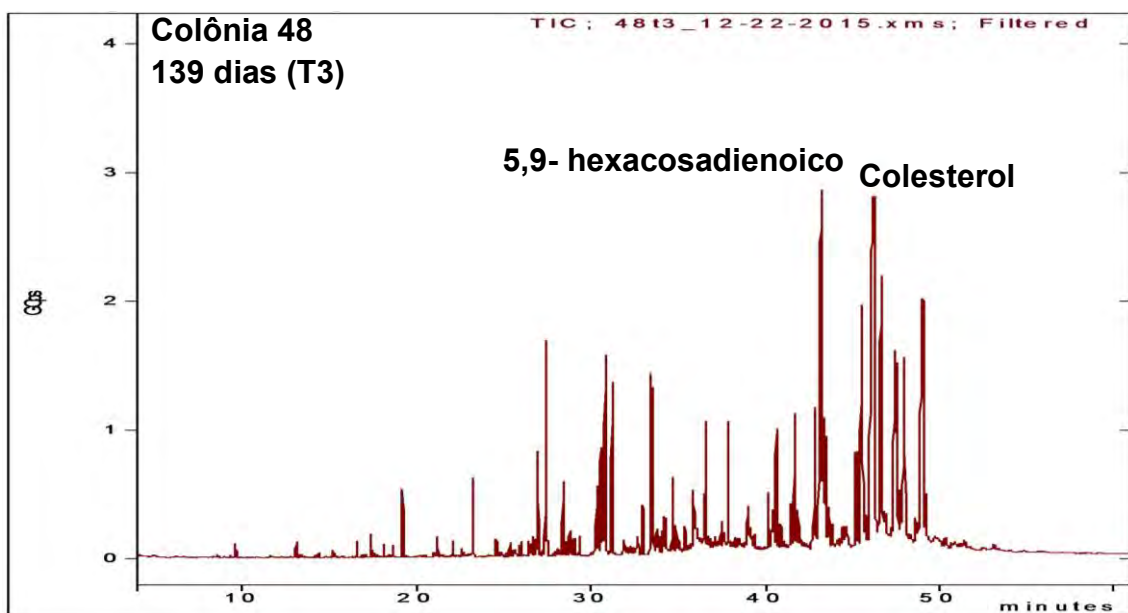
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção, cada substância é retida em um tempo específico. E o eixo vertical à abundância dos íons (substâncias).



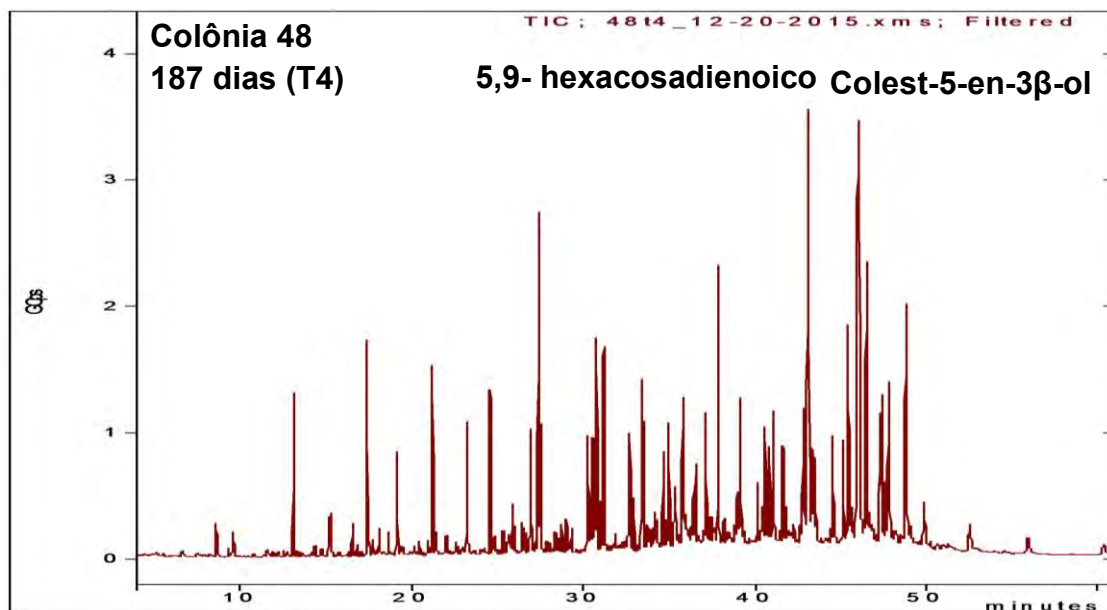
Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção, cada substância é retida em um tempo específico. E o eixo vertical à abundância dos íons (substâncias).



Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção, cada substância é retida em um tempo específico. E o eixo vertical à abundância dos íons (substâncias).



Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção, cada substância é retida em um tempo específico. E o eixo vertical à abundância dos íons (substâncias).

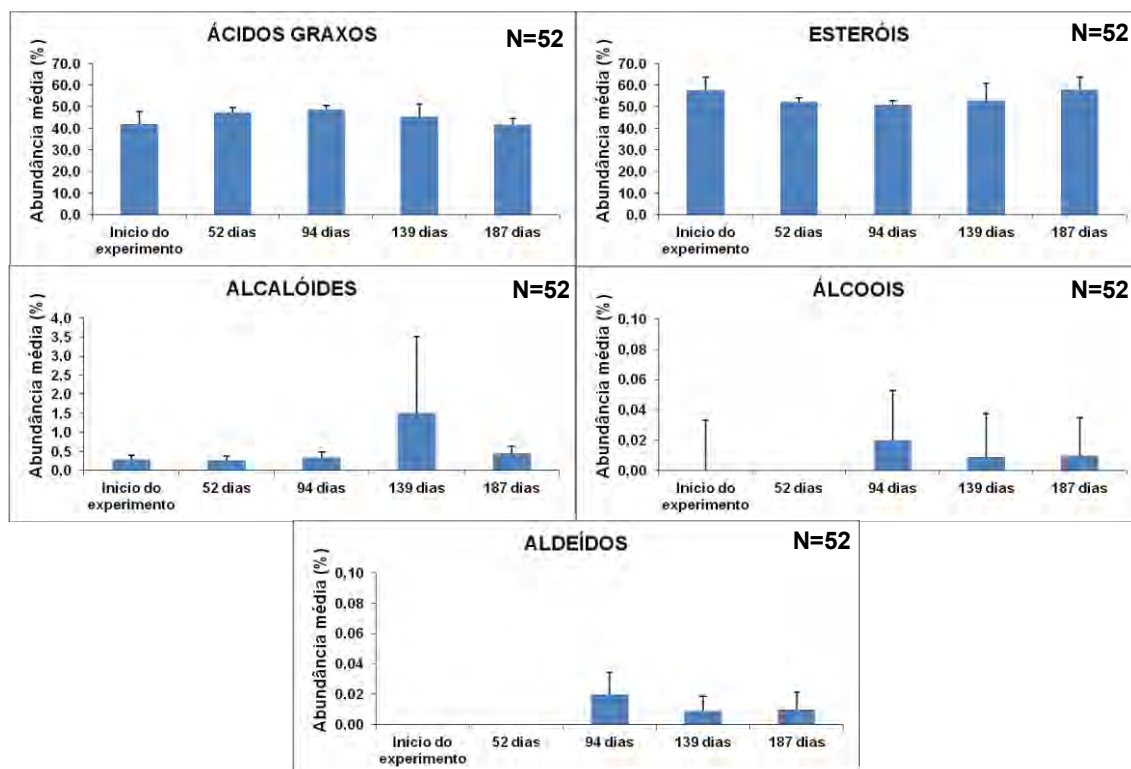


Legenda: Eixo horizontal corresponde aos tempos de retenção, cada substância é retida em um tempo específico. E o eixo vertical à abundância dos íons (substâncias).

Ao avaliar a abundância de cada classe de substâncias pelos dias de monitoramento do crescimento das colônias (T0 a T4) foi possível observar uma distribuição uniforme de ácidos graxos e esteróis entre as amostras (Fig. 31 e Anexo E). Os gráficos abaixo (Figs. 31) mostram relação entre as abundâncias dessas classes, que foi confirmada posteriormente com a Análise de Correlação de Pearson.

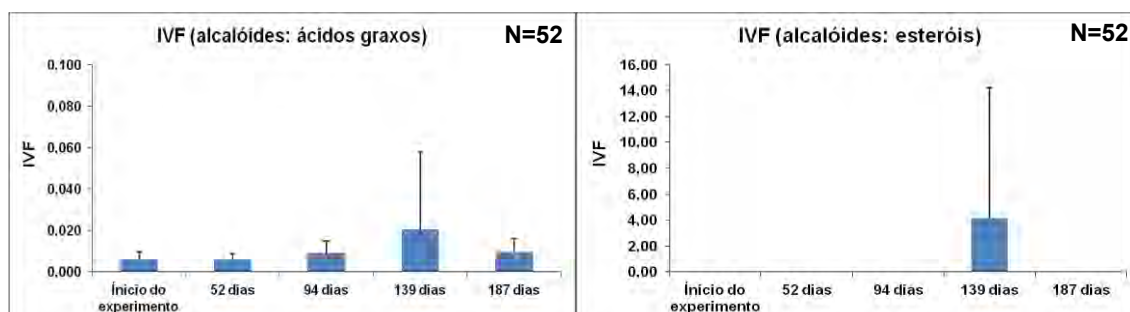
Em relação aos alcaloides a maior concentração foi observada em 139 dias (T3), comparado aos outros tempos (Fig.31 e Anexo E). Enquanto que álcoois e aldeídos foram maiores em 94 dias (T2) de monitoramento do crescimento das colônias de *D. anchorata*.

Figura 31 - Abundância média (%) e erro padrão (\pm) das classes metabólicas nas colônias de *D. anchorata* em cada tempo de monitoramento do experimento.



Os índices de variações fisiológicas mostraram um aumento na razão tanto entre alcaloides e ácidos graxos (Fig.32 e Anexo E) quanto entre alcaloides e esteróis, durante 139 dias (T3). Vale destacar que a razão entre alcaloides e esteróis apresentou um valor bem mais alto que a primeira razão, indicando um desvio maior de energia dos esteróis para produção de alcaloides.

Figura 32 - Índices de Variações Fisiológicas (alcalóides: ácidos graxos e alcalóides: esteróis) nas colônias de *D. anchorata* em cada tempo de monitoramento do experimento.

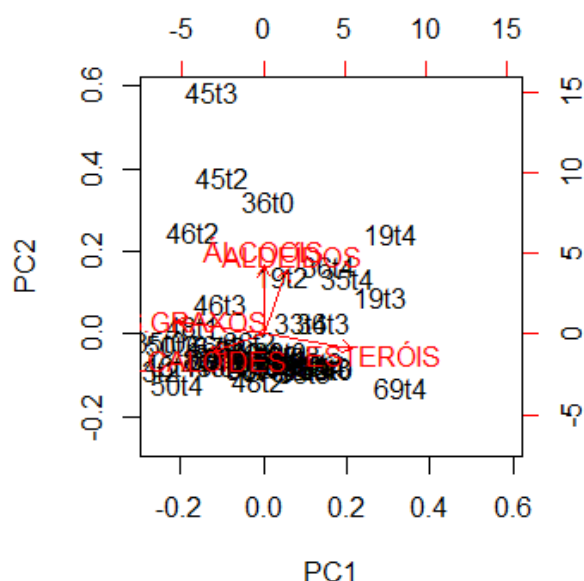


A Análise dos Componentes Principais (PCA) das amostras de *D. anchorata* não mostrou um padrão de organização em relação às classes de substâncias (Fig. 33). Podemos observar no gráfico abaixo, que a maioria das amostras se concentrou em torno do eixo horizontal (PC1), o que mostra a influência das classes de ácidos graxos e esteróis neste eixo de ordenação. Os Eixos PC1 e PC2 explicam 67% da variação dos dados (Tab. 7), sendo o eixo PC1 (44%) o de maior influência na organização dos dados.

Tabela 7 - Importância dos componentes (eixos – PC) na Análise de componentes principais (PCA) das amostras temporais de *D. anchorata*.

	PC1	PC2	PC3	PC4
Desvio padrão	1.49	1.07	0.93	0.87
Proporção de variância	0.44	0.23	0.17	0.15
Proporção acumulada	0.44	0.67	0.85	1.00

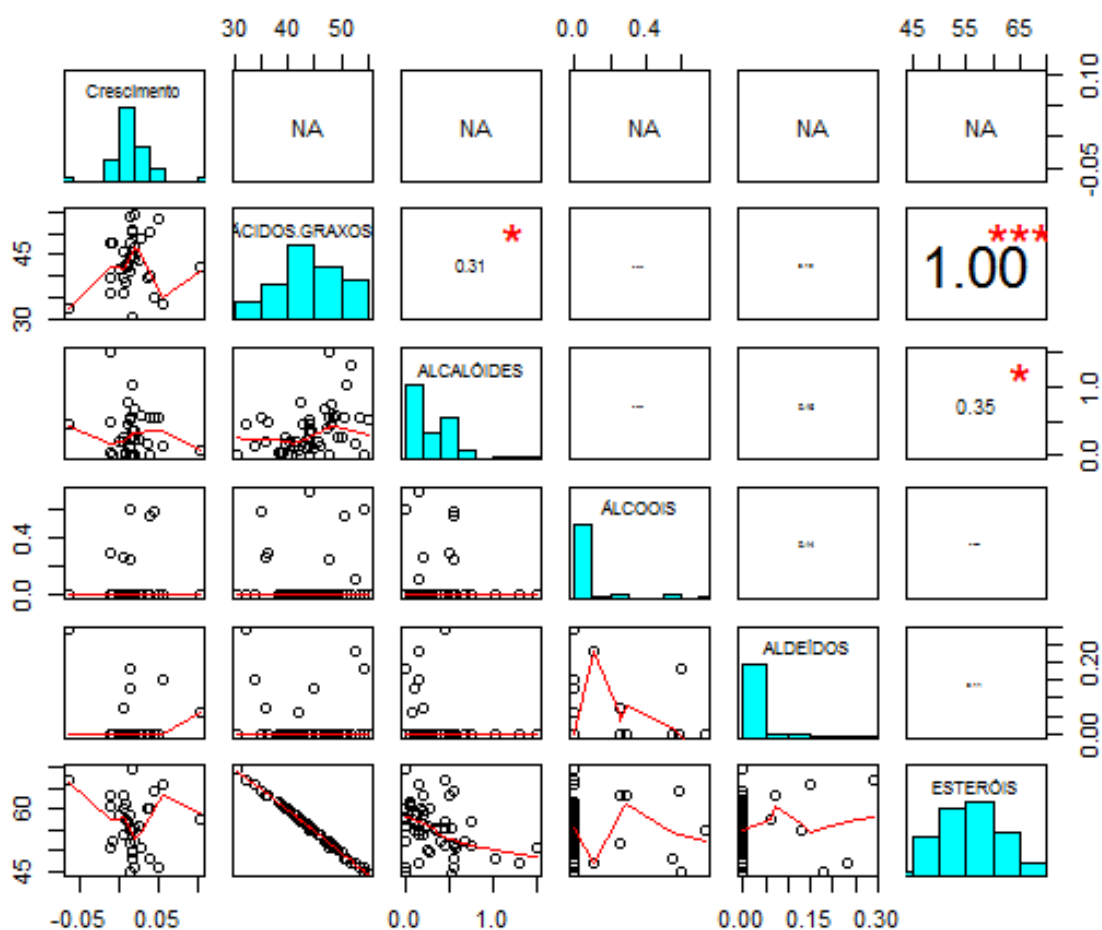
Figura 33 - Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção das classes de substâncias encontradas para nas colônias *D. anchorata*.



Legenda: Gráfico de ordenação das amostras (em preto) de acordo com as classes de substâncias (vermelho). PC1 e PC2 são os eixos de ordenação

Os gráficos de Correlação de Pearson mostraram que as amostras se concentraram na classe de crescimento intermediário para todas as classes de substâncias. Indicando não haver relação entre crescimento e produção metabólica. Algumas relações significativas podem ser destacadas, são elas: negativas entre ácidos graxos e esteróis ($P= 1.00$; $p=0.0001$) e entre os alcaloides e esteróis ($P=0.35$; $p=0.01$), enquanto que alcaloides e ácidos graxos tiveram uma relação positiva ($P= 0,31$; $p=0.01$) (Fig. 34).

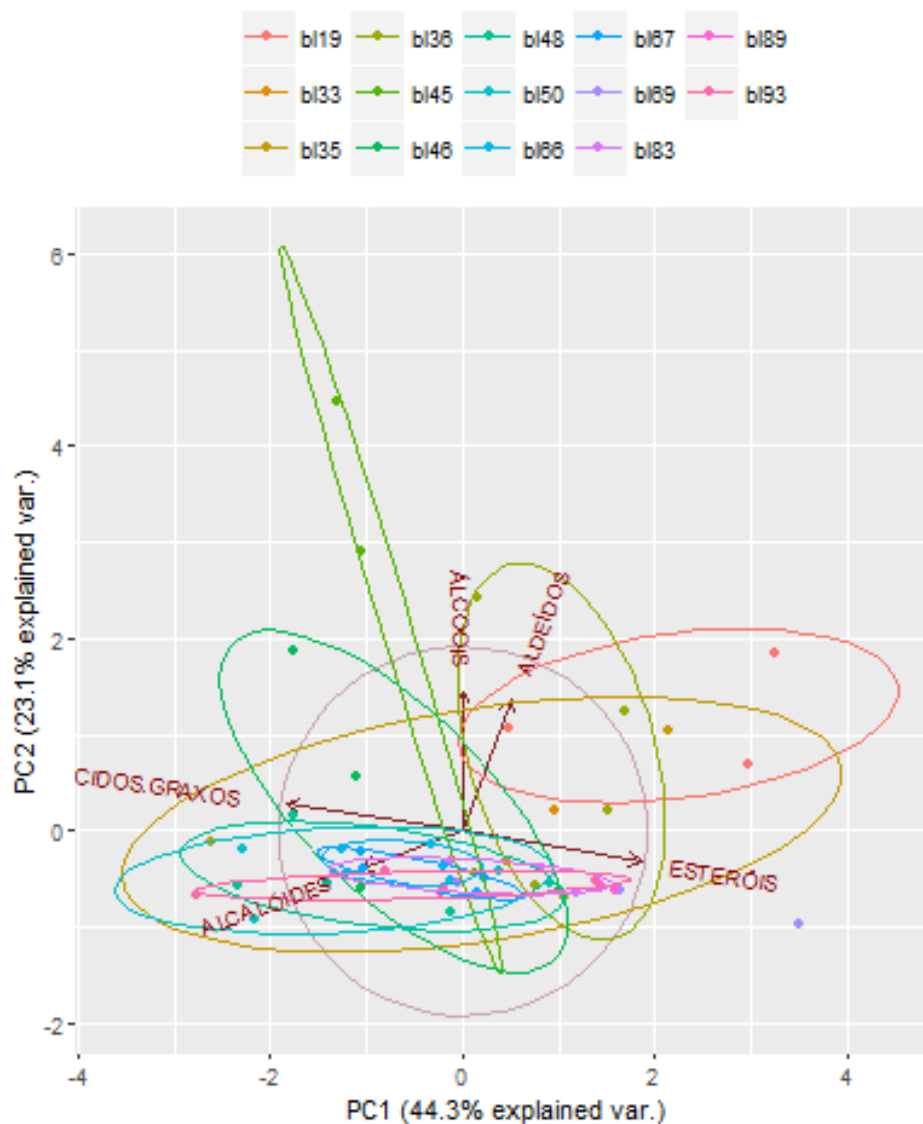
Figura 34 - Matriz gráfica de Correlação de Pearson entre as classes de substâncias nas amostras temporais de *D. anchorata*.



Legenda: A diagonal central corresponde aos fatores testados. Cada gráfico abaixo da diagonal central, representa uma relação entre a combinação de fatores. O eixo vertical dos gráficos corresponde ao fator que está na coluna e o eixo horizontal ao fator da linha. As imagens acima da diagonal central, indica os níveis de significância dos testes. * = 0,01 ; ** = 0,001 ; *** = 0.0001.

Em relação à variação das classes metabólicas (ácidos graxos, esteróis, alcaloides, aldeídos, álcoois) entre réplicas diferentes de *D. anchorata* (como bl19, bl33, bl35, bl36, bl45, bl46, bl48, bl50, bl66, bl67, bl69, bl83, bl89, bl93), também não foi observado uma ordenação clara (Fig. 35). A colônia bl35 foi a réplica que apresentou maior variação entre as classes de substâncias. Já as colônias bl19 e bl45 apresentaram baixa produção de ácidos graxos, comparada às demais.

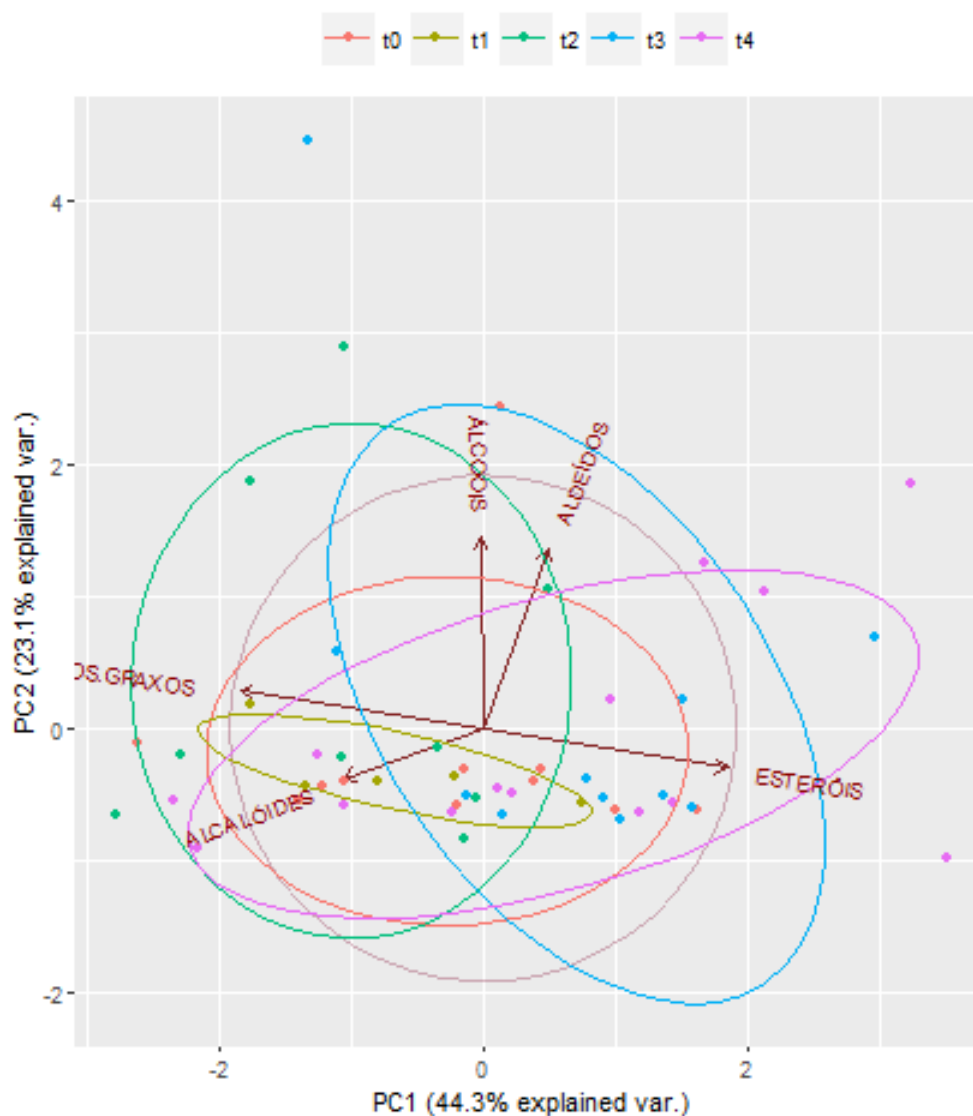
Figura 35 - Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para variação entre colônias de *Desmpasamma anchorata*.



Legenda: Elipses coloridas indicam a variação das amostras (colônias: bl19, bl33, bl35, bl36, bl45, bl46, bl48, bl50, bl66, bl67, bl69, bl83, bl89, bl93) em relação as variáveis (classes de substâncias). O círculo central corresponde ao *equilibrium circle*, substâncias que contribuem significativamente para a ordenação possuem vetores que extrapolam os limites deste círculo.

As amostras temporais também não mostraram um padrão de organização (Fig. 36). As maiores variações metabólicas foram observadas em 94, 139 e 187 dias; enquanto a menor variação foi em 52 dias. As amostras do início do experimento mostraram variação mais uniforme.

Figura 36 - Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe substâncias encontradas para variação temporal de *Desmpasamma anchorata*.

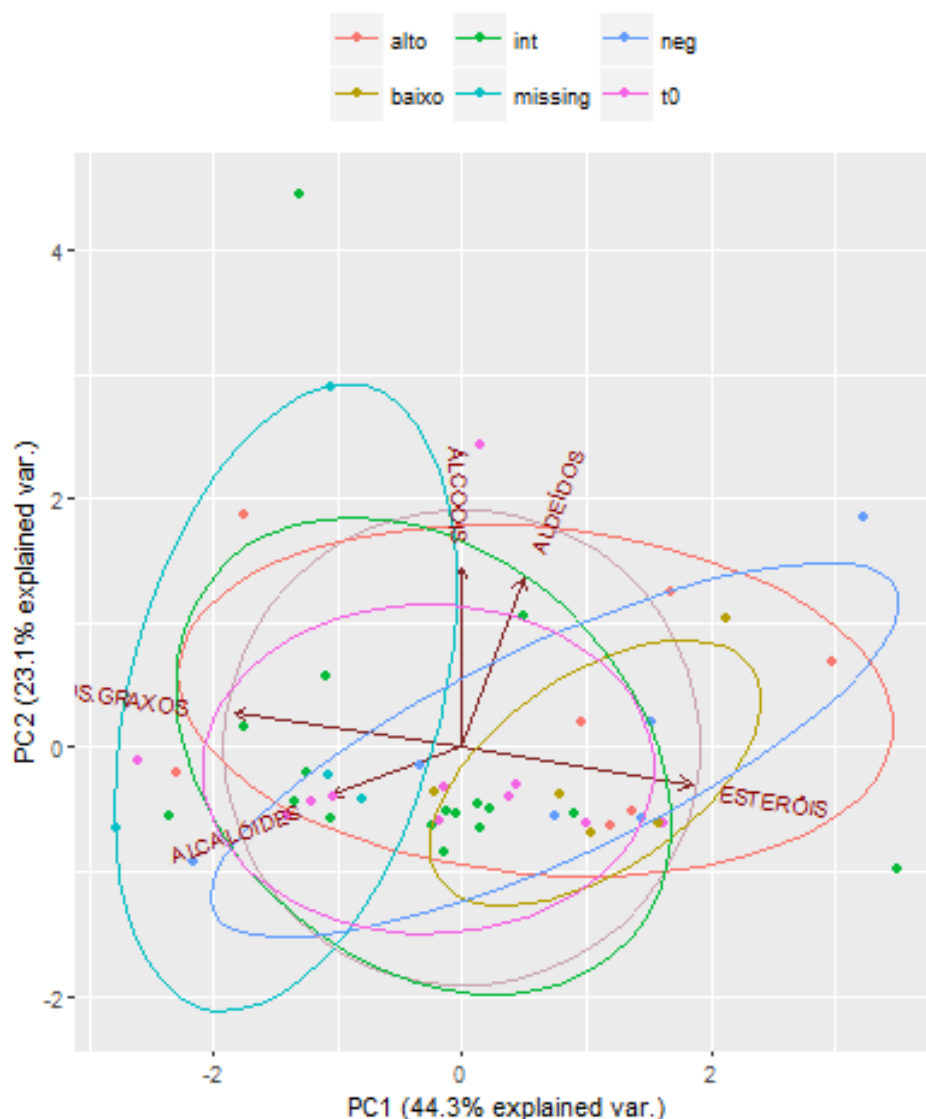


Legenda: Elipses coloridas indicam a variação das amostras (T0- início do experimento, T1- 52 dias; T2- 94 dias, T3- 139 dias T4- 187 dias) em relação as variáveis (classes de substâncias). O círculo central corresponde ao *equilibrium circle*, substâncias que contribuem significativamente para a ordenação possuem vetores que extrapolam os limites deste círculo.

Também não foi possível observar um padrão de ordenação quanto as classes de crescimento (Fig. 37). O agrupamento mais evidente foi das amostras de crescimento baixo que se concentraram em torno dos eixo dos esteróis

(horizontalmente). O crescimento negativo mostrou uma semelhança ao crescimento baixo na composição das substâncias, porém com maior amplitude no eixo vertical.

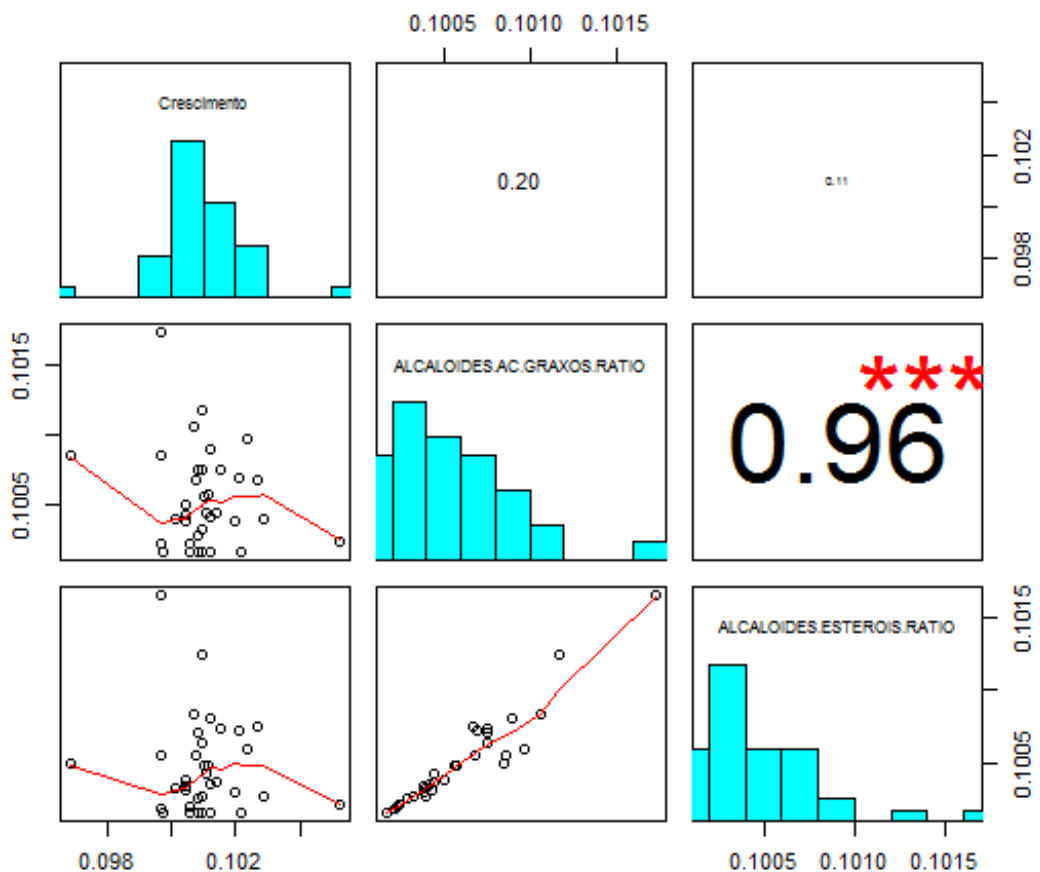
Figura 37 - Análise dos Componentes Principais (PCA): projeção da classe de substâncias encontradas para as diferentes classes de crescimento de *D. anchorata*.



Legenda: Elipses coloridas indicam a variação das amostras (negativo < 0; 0 < baixo < 0,10cm³; 0,10cm³ < intermediário < 0,30cm³; alto > 0,30cm³; *missing* – crescimento não aferido em campo) em relação as variáveis (classes de substâncias). O círculo central corresponde ao *equilibrium circle*, substâncias que contribuem significativamente para a ordenação possuem vetores que extrapolam os limites deste círculo.

Os índices de variações fisiológicas (alcaloides:ácidos graxos e alcaloides:esteróis) (Anexo F) apresentaram alta correlação positiva ($P= 0.96$; $p=0.0001$) (Fig. 38), pois os denominadores (ácidos graxos e esteróis) são duas variáveis muito relacionadas, por serem as substâncias majoritárias em *D. anchorata*. Logo o aumento na abundância de uma dessas classes implica na diminuição da outra. Os maiores IVFs foram observados para as esponjas que tiveram crescimento intermediário, porém não foi observada relação entre essas variáveis.

Figura 38 - Matriz gráfica de Correlação de Pearson entre os Índices de Variações Fisiológicas (IVF).



Legenda: A diagonal central corresponde aos fatores testados. Cada gráfico abaixo da diagonal central, representa uma relação entre a combinação de fatores. O eixo vertical dos gráficos corresponde ao fator que está na coluna e o eixo horizontal ao fator da linha. As imagens acima da diagonal central, indica os níveis de significância dos testes. * = 0,01 ; ** = 0,001 ; *** = 0.0001.

2.6 Discussão

2.6.1 Crescimento

A dinâmica de crescimento é considerada um dos parâmetros mais importantes para entender a história de vida em esponjas. A capacidade de reprodução, competição e sobrevivência aumentam proporcionalmente com o tamanho (GARRABOU e ZABALA, 2001).

As esponjas *D. anchorata* transplantadas e monitoradas neste estudo apresentaram alta taxa de crescimento, podendo dobrar o seu volume em pouco mais de um mês. Taxas de crescimento semelhantes foram observadas por Silva (2014). O crescimento excessivo é uma característica marcante da espécie, que pode crescer mais rapidamente quando comparada a outras esponjas (WULFF, 2005). Além disso, é uma das principais esponjas epibiontes sobre outros organismos (HAJDU *et al.*, 2011), como octocorais e outras esponjas, podendo causar efeitos negativos (competição), positivos (mutualismo) e neutros (Mc LEAN, 2008; Mc LEAN *et al.*, 2014).

As oscilações nas taxas de crescimento, principalmente no início do monitoramento, podem estar associadas à resposta na manipulação das colônias das esponjas durante o transplante para as placas experimentais. Silva (2014) também observou variação nesse parâmetro para *D. anchorata*, porém as taxas de crescimento dessa esponja não mostraram relação com fatores abióticos. O crescimento em esponja é altamente plástico, podendo ocorrer de forma irregular ao longo do corpo, resultando em grande variabilidade dessa taxa entre colônias da mesma espécie (GARRABOU e ZABALA, 2001). Além disso, a espécie é muito frágil, podendo ser facilmente fragmentada, com o movimento da água (McLEAN, 2006).

As taxas de crescimento das colônias de *D. anchorata* não apresentaram relação com seu volume inicial. Desta forma, não foi possível associar que indivíduos menores teriam maior crescimento. Os resultados aqui mostrados, refutam os de Mc Lean (2008), no qual observou um efeito de crescimento dependente do tamanho, onde colônias grandes tenderam a diminuir e colônias menores, a aumentar de tamanho.

O crescimento exponencial das esponjas monitoradas pode estar relacionado com a área livre das placas usadas para o transplante servindo de substrato disponível. As esponjas possuem crescimento indeterminado podendo aumentar exponencialmente de tamanho (SEBENS, 1987). No entanto, o crescimento exponencial é raramente observado em condições naturais, devido a limitações como espaço e alimento (SEBENS, 1987).

O crescimento da classe Demospongiae também pode ser afetado por outros fatores como, formas de crescimento (ereto, ramificado e incrustante), os estágios e estratégias da história de vida (maturidade, reprodução, defesa) (McLEAN, 2006) e alocação de recursos para reprodução e regeneração. (PAWLIK *et al.*, 2008).

2.6.2 Variação metabólica

Os poríferos são os organismos marinhos que têm atraído grande atenção pela diversidade de produtos naturais produzidos. Inúmeras substâncias já foram isoladas de esponjas marinhas, como por exemplo, terpenos, alcaloides, ácidos graxos, esteróis, entre outros (PAWLIK, 1993; FAULKNER, 2001; BLUNT *et al.*, 2007, 2012 e 2015).

Assim como no capítulo anterior, as amostras temporais de *D. anchorata* também apresentaram uma grande diversidade de compostos químicos, principalmente esteróis e ácidos graxos, sendo o esterol colest-5-en-3 β -ol (colesterol) e o éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico as substâncias mais abundantes nos extratos orgânicos.

A concentração natural de metabólitos secundários em um organismo pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles, temporal, espacial e fisiológico como, crescimento e reprodução (PAGE *et al.*, 2005; WALTERS e PAWLIK, 2005; ABDO *et al.*, 2007; PAWLIK *et al.*, 2008; LEONG e PAWLIK, 2010; SACRISTAN-SORIANO *et al.*, 2011).

D. anchorata apresentou menor variação metabólica com 52 dias (T2) após a implantação do experimento, coincidindo com a estação de inverno. Outras espécies, também apresentaram relação entre a sazonalidade e variação metabólica, como por exemplo, as esponjas *Crambe crambe* (TURON *et al.*, 1998) e

Oscarella tuberculata (IVANISEVIC *et al*, 2011), que tiveram maior bioatividade durante o verão e menor durante o inverno. Já as esponjas *Agelas oroides* e *Petrosia fuciformis*, exibido um padrão inverso (FERRETI *et al.*, 2009). No entanto, para afirmar a existência de variações sazonais faz-se necessário o monitoramento da espécie por pelo menos dois ciclos de estações.

Um aumento na produção de alcaloides também foi observado em 139 dias (T3) de monitoramento das colônias transplantadas, sugerindo aumento da defesa química neste período. No entanto, não foi possível identificar a causa deste efeito. De Paula (2007) observou que *D. anchorata* não era afetada pela presença dos corais invasores *Tubastraea spp.* nas comunidades de costão rochosos da Baía da Ilha Grande. Posteriormente, Meurer e colaboradores (2010) relataram que *D. anchorata* foi capaz de danificar ou causar a morte dos corais *Tubastraea spp.* Lages e colaboradores (2012) observaram, através de experimento de competição entre *Tubastraea spp.* e *D. anchorata*, que a esponja induzia a produção de alcaloides no tecido dos corais. Santos (2013) estudou a influência de fatores *Top-Down/Botton-Up* na abundância de esponjas em comunidades de substratos artificiais na Baía da Ilha Grande, onde *D. anchorata* é muito abundante. A autora verificou que a abundância de esponjas é afetada negativamente pela adição de nutrientes na água e positivamente pela exclusão de predação. Silva (2014) ao investigar as interações entre *D. anchorata* e *Tubastraea spp.*, observou que a esponja utiliza o sobrecrecimento como principal estratégia de defesa contra o competidor, enquanto que os corais se defendem física e quimicamente.

Investir em crescimento pode resultar em redução de recursos para produção de defesas químicas. A hipótese de *trade-off* entre crescimento e defesa química já foi investigada para algumas esponjas. Walter e Pawlik (2005) observaram que esponjas não defendidas quimicamente apresentaram maior taxa de recuperação nos tecidos feridos, quando comparadas às esponjas que produziram defesas químicas. Pawlik e colaboradores (2008) observaram que espécies não defendidas eram mais abundantes nos recifes artificiais, enquanto que os recifes naturais era dominado pelas espécies mais defendidas. Leong e Pawlik (2010) confirmaram a existência de *trade-off* entre crescimento e defesa química para sete espécies de esponjas do caribe.

De acordo com os resultados obtidos, as colônias de *D. anchorata* não apresentaram uma relação negativa (*trade-off*) estatisticamente significativa, entre crescimento e produção metabólica. Porém, vale ressaltar que as amostras de colônias com crescimento baixo e negativo, tiveram maiores abundâncias de esteróis e alcaloides. Estudos destacam a importância de alcaloides, provenientes de esponjas marinhas, na defesa contra consumidores e competidores (PAWLIK *et al.*, 1995; LINDEL *et al.*, 2000). Além de apresentarem grande diversidade de atividades biológicas na área medicinal, como por exemplo, antimicrobiano, efeitos citotóxicos e neurotóxicos (FATTORUSSO e TAGLIALATELA-SCAFATI, 2008) e antileishmaniose (*D. anchorata*) (COMPAGNONE *et al.*, 1999).

Desta forma, os resultados aqui apresentados, não corroboram as Hipóteses de Defesa Ótima e de Balanço entre Crescimento e Diferenciação. *D. anchorata* mostrou ser uma espécie com grande produção de metabólitos secundários e de rápido crescimento.

3.7 Conclusão

- O esterol colest-5-en-3 β -ol (colesterol) e do éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico foram as substâncias mais abundantes nos extratos brutos de *D. anchorata*.
- *D. anchorata* apresentou uma correlação negativa entre as abundâncias de ácidos graxos e esteróis.
- *D. anchorata* apresentou menor variação metabólica em 52 dias após a implantação do experimento, porém esse resultado não foi significativo.
- *D. anchorata* não apresentou relação significativa entre produção metabólica e crescimento

CONCLUSÕES GERAIS

Esponjas marinhas são organismos mais antigos que habitam os ambientes aquáticos. Estudar a ecologia e a química de esponjas permite entender o sucesso do estabelecimento e abundância destes seres em diversos ambientes, assim como sua permanência até os dias atuais.

Desmapsamma anchorata é uma espécie abundante e com ampla distribuição na costa brasileira. O rápido crescimento e a produção de defesas químicas fazem com que esta espécie consiga colonizar diversos tipos de substratos até mesmo crescer sobre outras espécies sésseis. Além de ser capaz de competir com espécies invasoras. Devido a sua grande importância para as comunidades que habitam, o presente estudo buscou investigar as características químicas e ecológicas da espécie.

Segundo os resultados apresentados neste manuscrito, a produção de metabólitos secundários não apresentou variações intra e interpopulacionais significativas. Apesar de serem observadas diferenças na abundância de alcaloides entre regiões de base e extremidade das colônias e também entre colônias de diferentes populações.

D. anchorata também não apresentou variações metabólicas temporais significativas, mas menores abundâncias de metabólitos secundários foram observadas em 52 dias após a implantação do experimento. Não foi possível constatar um *trade-off* entre crescimento e produção metabólica para espécie.

Apesar de os resultados não corroborarem as hipóteses de Defesa Ótima e Balanço Crescimento-Diferenciação na área da ecologia, eles permitiram elucidar questões a cerca do metabolismo secundário da esponja *D. anchorata*, facilitando a compreensão de sua ecologia química. Além de contribuir para melhor entendimento do papel da espécie e da interação com outros organismos, nos ambientes que habita.

REFERÊNCIAS

- ABDO, D. A., MOTTI, C. A., BATTERSHILL, C. N., HARVEY, E. S. 2007. Temperature and spatiotemporal variability of salicylhalamide A in the sponge *Haliclona* sp. *Journal of Chemical Ecology* 33: 1635–1645.
- AERTS, L. 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, L. A. M., VAN SOEST, R. W. M. 1997. Quantification of Sponge/Coral Interactions in a Physically Stressed Reef Community, NE Colombia. *Marine Ecology Progress Series*, 148, 125-134.
- ALHO, C. J. R., SCHNEIDER, M., VASCONCELLOS, L. A. 2002. Degree of threat to the biological diversity in the Ilha Grande State Park (RJ) and guidelines for conservation. *Brazilian Journal of Biology*. 62: 375-385.
- ANTONIUS, A., BALLESTEROS, E. 1998. Epizoism: a new threat to coral health in Caribbean reefs. *Revista de Biologia Tropical*, 46, 145–156.
- ARONSON, R. B., PRECHT, W. F., TOSCANO, M. A., KOLTES, K. H. 2002. The 1998 bleaching event and its aftermath on a coral reef in Belize. *Marine Biology*. 141: 435–447.
- ASSMANN, M., IHE, E., KIK, M. 2004. Multiple defensive roles for bromopyrrole alkaloids from caribbean *ageles* sponges. *Bollettino dei Musei e Degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*. 68: 187-193.
- ATTA, A. M., MENEZES, E. P., PEIXINHO, S., SOUSA- ATTA, M. I. 1990. Isolation of a lectin from the marine sponge *Desmapsamma anchorata* by affinity chromatography on raffinose-sepharose 6B. *Brazil Journal Medical Biology Research*. 23:191-194.
- BALDWIN, I. T., 1994. Chemical changes rapidly induced by folivory. In, *Insect-plant interactions*, Vol. 5, edited by E.A. Bemays, CRC Press, Boca Raton. pp. 1-23.
- BASTIDAS, C., BONE, D. 1996. Competitive strategies between *Palythoa caribaeorum* and *Zoanthus sociatus* (Cnidaria:Anthozoa) at a reef flat environmental in Venezuela. *Bulletin of Marine Science*, v.59, pp. 543-555.
- BECERRO, M. A., PAUL, V. J., STARMER, J. 1998. Intracolony variation in chemical defenses of the sponge *Cacospongia* sp. and its consequences on generalist fish predators and the specialist nudibranch predator *Glossodoris pallida*. *Marine Ecology Progress Series*, 168:187–196.

- BECERRO, M., THACKER, R. W., TURON, X., URIZ, M. J. PAUL, V. J. 2003. Biogeography of sponge chemical ecology: comparisons of tropical and temperate defenses. *Oecologia*. 135: 91–101.
- BECERRO, M. A., TURON, X., URIZ, M. J. 1995. Natural variation of toxicity in encrusting sponge *Crambe crambe* (Schmidt) in relation to size and environment. *Journal of Chemical Ecology* 21: 1931–1946.
- BECERRO, M. A., URIZ, M. J., TURON, X. 1997. Chemically-mediated interactions in benthic organisms: the chemical ecology of *Crambe crambe* (Porifera, Poecilosclerida). *Hydrobiologia* 355: 77–89.
- BERLINCK, R. G. S. 2007. Polycyclic Diamine Alkaloids from Marine Sponges. *Top in Heterocyclic Chemistry*. 10: 211–238.
- BERLINCK, R. G. S., TRINDADE-SILVA, A. E., SANTOS, M. F. C. 2012. The chemistry and biology of organic guanidine derivatives. *Natural Products Reports*. 29:1382-1406.
- BINGHAM, B. L., YOUNG, C. M. 1991. Influence of sponges on invertebrate recruitment: a field test of allelopathy. *Marine Biology*.109:19.
- BLUNT, J. W., COPP, B. R., HU, W. P., MUNRO, M. H. G., NORTHCOTE, P. T., PRINSEP, M. R. 2007. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 24: 31–86.
- BLUNT, J. W., COPP, B. R., KEYZERS, R. A., MUNRO, M. H. G., PRINSEP, M. R. 2012. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 29(2):144-222.
- BLUNT, J. W., COPP, B. R., KEYZERS, R. A., MUNRO, M. H., PRINSEP, M. R. 2015. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 32(2): 116-211.
- BOBZIN, S. C., FAULKNER, D. J. 1992. Chemistry and chemical ecology of the Bahamian sponge *Aplysilla glacialis*. *Journal Chemical Ecology*. 18:309–332.
- BOLSER, R. C., HAY, M. E. 1996. Are tropical plants better defended? Palatability and defenses of temperate vs. tropical seaweeds. *Ecology* 77: 2269–2286.
- BRUSCA, R. C., BRUSCA, G. J. 1990. *Invertebrates*. Sinauer Associates Inc., Sunderland. 922p.
- BURNS, E., IFRACH, I., CARMELI, S., PAWLIK, J. R., ILAN, M. 2003. Comparison of anti-predatory defenses of Red Sea and Caribbean sponges. I. Chemical defense. *Marine Ecology Progress Series*. 252: 105–114.
- CALCINAI, B., BAVESTRELLO, G., CERRANO, C. 2004. Dispersal and association of two allies species in the Indonesian coral reefs: the octocoral *Carijoa riisei* and the demosponge *Desmapsamma anchorata*. *J Mar Biol Assoc. U.K.* 84:937-941.

CARBALLEIRA, N. M., MALDONADO, M. E. 1988. 7-Methyl-8-hexadecenoic acid: A novel fatty acid from the marine sponge *Desmapsamma anchorata*. *Lipids*. 23: 20-693

CARBALLEIRA, N. M., SHALABI, F. 1994. Unusual lipids in the Caribbean sponges *Amphimedon viridis* and *Desmapsamma anchorata*. *Journal Natural Products*. 57(8):1152-9

CARROLL, A. R., AVERY, V. M. 2009. Leptoclinidamines A-C, indole alkaloids from the Australian ascidian *Leptoclinides durus*. *Journal of Natural Products*. 72: 696-699.

CHANAS, B., PAWLIK, J. R., LINDEL, T., FENICAL, W. 1996. Chemical defense of the Caribbean sponge *Agelas clathrodes* (Schmidt). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 208: 185-196.

CLARKE, K. G., WARWICK, R. M. 1994. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Plymouth: Plymouth Marine Laboratory. 144p.

COMPAGNONE, R. S., OLIVERI, M. C., PIRA, I. C., MARQUES, S., RANGEL, H. R., DAGGER, F., SUARÉZ, A. I., GOMÉZ, M. 1999. 5-alkylpyrrole-2-carboxaldehydes from the caribbean sponges *Mycale microsiguata* and *Desmapsamma anchorata*. *Natural Product Letters*. 13(3): 203-21 1.

COSTA, H. 1998. Uma avaliação da qualidade das águas costeiras do estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Fundação de Estudos do Mar - Femar.

CREED, J. C. 2006. Two invasive alien azooxanthellate corals *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis* dominate the native zooxanthellate *Mussismilia hispida* in Brazil. *Coral Reefs*. 25:350.

CREED, J. C., PIRES, D. O., FIGUEIREDO, M. A. O. 2007. Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Brasil. 416 p.

CRONIN, G. 2001. Resource Allocation in Seaweeds and Marine Invertebrates: Chemical defense patterns in relation to defense theories. In: CRC Press. *Chemical Marine Ecology*. Washington: 321-349.

DE PAULA, A. F. 2007. Biologia reprodutiva, crescimento e competição dos corais invasores *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* (Scleractinia: Dendrophylliidae) com espécies nativas. 107 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

- DE PAULA, A. F., CREED, J. C. 2004. Two species of the coral *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) in Brazil: a case of accidental introduction. *Bulletin of Marine Science*. 74:175-183.
- DE PAULA, A. F., CREED J. C. 2005. Spatial distribution and abundance of nonindigenous coral genus *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) around Ilha Grande, Brazil. *Brazilian Journal Biology*. 65: 661-673.
- DIAZ, M. C., RUTZLER, K. 2001. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. *Bulletin of Marine Science*. 69: 535–546.
- DONADIA, W. C. R., FERREIRA, Y. C. S., FLEURY, B. G. 2015. Produtos Naturais de Diferentes Populações de *Tubastraea* spp. na Baía da Ilha Grande. *In: 26ª UERJ Sem Muros*, Rio de Janeiro.
- DUCKWORTH, A. R., BATTERSHILL, C. N. 2001. Population dynamics and chemical ecology of New Zealand Demospongiae *Latrunculia* sp. nov. and *Polymastia croceus* (Poecilosclerida: Latrunculiidae: Polymastiidae). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 35: 935-949.
- ENGEL, S., PAWLIK, J. R. 2000. Allelopathic activities of sponge extracts. *Marine Ecology Progress Series*, 207:273–281.
- FAIOLI, C. N., DOMINGOS, T. F. S., OLIVEIRA, E. C., SANCHEZ, E. F., RIBEIRO, S., MURICY, G., FULY, A. L. 2013. Appraisal of Antiophidic Potential of Marine Sponges against *Bothrops jararaca* and *Lachesis muta* Venom. *Toxins*. 5:1799-1813.
- FATTORUSSO, E., TAGLIALATELA-SCAFATI, O. 2008. *Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology*, Wiley-VCH.
- FAULKNER, D. J. 2001. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 18: 1–49.
- FERREIRA, Y. C. S. 2014. Comunidades Macrobênticas da Estação Ecológica de Tamoios (Angra dos Reis e Paraty –RJ): Naturais x “Invadidas” pelos orais Invasores *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis*. 58 f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- FERRETTI, C., VACCA, S., DE CIUCIS, C., MARENGO, B., DUCKWORTH, A. R., 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). *Marine Ecology-an Evolutionary Perspective* 30: 327–336.
- FIGUEIREDO, M. A. O., BARRETO, M. B. B., REIS, R. P. 2004. Caracterização das macroalgas nas comunidades marinhas da Área de Proteção Ambiental de Cairuçu, Parati, RJ – subsídios para futuros monitoramentos. *Revista Brasileira de Botânica*. 27: 11-17.

FIGUEIREDO M. A. O., HORTA P. A., PEDRINI, A. G.; NUNES, J. M. C. 2008. Benthic marine algae of the coral reefs of Brazil: a literature review. *Oecologia Brasiliensis*. v.12, pp. 258-269.

FILHO, G. H. P. 2008. Caracterização das comunidades marinhas bentônicas de substrato consolidado da Ilha do Francês (ES) baseado em unidades da paisagem. Tese de doutorado em ciências, área de botânica, apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo. 198p.

FINE, J. M., SORENSEN, P. W. 2008. Isolation and biological activity of the multi-component sea lamprey migratory pheromone *Journal of Chemical Ecology*. 34: 1259–1267.

FLEURY, B. G. 1999. Ecologia química marinha: Competição por espaço ente corais e efeitos de nutrientes no metabolismo secundário de macroalgas e octocorais. Tese de Doutorado. Núcleo de pesquisa em produtos naturais. Pós-graduação em química de produtos naturais. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 241p.

FLEURY, B. G., COLL, J. C., SAMMARCO, P. 2006. Complementary (secondary) metabolites in a soft coral: sex-specific variability, inter-clonal variability, and competition. *Marine Ecology*. 27(3): 204-218.

FLEURY, B. G., COLL, J. C., TENTORI, E., DUQUESNE, S., FIGUEIREDO, L. 2000. Effect of nutrient enrichment on the complementary (secondary) metabolite composition of the coral *Sarcophyton ehrenbergi* (Cnidaria: Octocorallia: Alcyonaceae) of the Great Barrier Reef. *Marine Biology*. 136: 63-68.

FLEURY, B. G., LAGES, B. G., BARBOSA, J. P., KAISER, C. R., PINTO, A. C. 2008a. New hemiketal steroid from the introduced soft coral *Chromonephthea braziliensis* is a chemical defense against predatory fishes. *Journal of Chemical Ecology*. 34: 987–993.

FLEURY, B. G., PETRONILHO, E., COSTA, F. P., PEDERNEIRAS, R. L., PINTO, A. C., HERMS, F., CREED, J. C. 2008b. 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.1:326-326.

FREEMAN, C. J., GLEASON, D. F. 2012. Does concentrating chemical defenses within specific regions of marine sponges result in enhanced protection from predators? *Hydrobiologia*. 687:289–297.

FURROW, F. B., AMSLER, C. D., MCCLINTOCK, J. B., BAKER, B. J. 2003. Surface sequestration of chemical feeding deterrents in the Antarctic sponge *Latrunculia*

apicalis as an optimal defense against sea star spongivory. *Marine Biology* 143: 443–449.

FUSETANI, N., MATSUNAGA, S. 1993. Bioactive Sponge Peptides. *Chemical Review*. 93: 1793-1808.

GARRABOU, J., ZABALA, M. 2001. Growth dynamics in four Mediterranean Demosponges. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 52: 293–303.

GAZAVE, E., LAPEBIE, P., ERESKOVSKY, A. V., VACELET, J., RENARD, E., CARDENAS, P., BORCHIPELLINI, C. 2012. No longer Demospongiae: Homoscleromorpha formal nomination as a fourth class of Porifera. *Hydrobiologia*. 687: 3–10.

GILLOR, O., CARMELI, S., RAHAMIM, Y., FISHELSON, Z., ILAN, M. 2000. Immunolocalization of the toxin Latrunculin B within the Red Sea sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae). *Marine Biotechnology* 2: 213–223.

GUENTHER, J., WRIGHT, A. D., BURNS, K., DE NYS, R. 2009. Chemical antifouling defences of sea stars: effects of the natural products hexadecanoic acid, cholesterol, lathosterol and sitosterol. *Marine Ecology Progress Series*. 385: 137–149.

HADDAD, M. A., ROCHA, R. M. 2006. Porifera. *In*: RIBERIO-COSTA, C. S., ROCHA, R. M. *Invertebrados: manual de aulas práticas*. Ed. Holos, Ribeirão Preto. 271p.

HAJDU, E., PEIXINHO, S., FERNANDEZ, J. C. C. 2011. Esponjas Marinhas da Bahia: guia de campo e laboratório. Série Livros. Rio de Janeiro: Museu Nacional. 276p.

HARPER, M. K., BUNGI, T. S., COPP, B. R., JAMES, R. D., LINDSAY, B. S., RICHARDSON, A. D., *et al.* 2001. Introduction to the chemical ecology of marine natural products. *In*: McClintock JB, Baker BJ, editors. *Marine Chemical Ecology*. Boca Raton: CRC Press. p 3-70.

HARRYS, D. C. 2001. Análise Química Quantitativa. 5a. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 640-645.

HARVELL, C. D. 1990. The ecology an evolution of inducible defenses. *The Quarterly Review of Biology*. 65: 323-341.

HAY, M. E. 1981. Spatial patterns of agrazing intensity on a caribbean barrier reef: Herbivory and algal distribution. *Aquatic Botany*. 11:97–109.

HAY, M. E. 1991. Fish-seaweed interactions on coral reefs: effects of herbivorous fishes and adaptations of their prey. *In*: *The ecology of fishes on coral reefs*. (P.F. Sale, ed.). Academic Press, San Diego, Califórnia. pp.96-119.

HAY, M. E., FENICAL, W. 1996. Chemical ecology and marine biodiversity: insights and products from the sea. *Oceanography*, Vol. 9, pp. 10-20.

HAY, M. E., STEINBERG, P. D. 1992. The chemical ecology of plant-herbivore interactions in marine versus terrestrial communities. In: *Herbivores: their interaction with secondary metabolites, evolutionary and ecological processes*, edited by J.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum, Academic Press, San Diego, pp. 371-413.

HENRIKSON, A. A., PAWLIK, J. R. 1995. A new antifouling assay method: results from field experiments using extracts of four marine organisms. *J Exp Mar Biol Ecol* 194:157–165.

HERMES, D. A., MATTSON, W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*.67: 283, 1992.

HOOPER, J. N. A., VAN SOEST, R. W. M., DEBRENNE, F. 2002. *Phyllum Porifera Grant, 1836. In: van Soest RWM (Ed.) Systema Porifera: a guide to the classification of sponges*. New York: Klumer Academic, Plenum Publishers. 1:1-5.

HOWARTH, R. W. 1988. Nutrient limitation of net primary production in marine ecosystems, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 19:89.

HU, G. P., YUAN, J., SUN, L., SHE, Z. G., WU, J. H., LAN, X. J., ZHU, X., LIN, Y. C., CHEN, S. P. 2011. Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008. *Marine Drugs*. 9: 514–525

IVANISEVIC, J., THOMAS, O. P., PEDEL, L., PÉNEZ, 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): e28059.

KELLY, S. R., JENSEN, P. R., HENKEL, T. P., FENICAL, W., PAWLIK, J. R. 2003. Effects of Caribbean sponge extracts on bacterial attachment. *Aquatic Microbial Ecology*. 31: 175–182.

KELMO, F. 2002. Ecological consequences of the 1997–98 El Niño Southern Oscillation on the major coral reef communities from northern Bahia, Brazil. PhD dissertation, University of Plymouth, Plymouth, UK.

KOBAYASHI, J., ISHIBASHI, M. 1993. Bioactive Metabolites of Symbiotic Marine Microorganisms. *Chemical Review*. 93: 1753-1769.

KOUTSOUKOS, V. de S. 2012. Descrição da estrutura de comunidades bentônicas de ilhas da estação ecológica de Tamoios, baía da Ilha Grande, RJ. 135f. Dissertação – (Mestrado em Biologia Marinha) – Universidade Federal Fluminense, Niterói: [s.n.].

KUBANEK, J., PAWLIK, J. R., EVE, T. M., FENICAL, W. 2000. Triterpene glycosides defend the Caribbean reef sponge *Erylus formosus* from predatory fishes. *Marine Ecology Progress Series* 207: 69–77.

KUBANEK, J., WHALEN, K. E., ENGEL, S., KELLY, S. R., HENKEL, T. P., FENICAL, W., PAWLIK, J. R. 2002. Multiple defensive roles for triterpene glycosides from two Caribbean sponges. *Oecologia*, 131:125–136.

LAGES, B. G. 2012. Avaliação da defesa química e da influência dos corais invasores *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* na estruturação das comunidades bentônicas da Baía da Ilha Grande – RJ. 2012. 241 f. Tese (doutorado em Ecologia e Evolução)- Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LAGES, B. G., FLEURY, B. G., HOVELL, A. M. C., REZENDE, C. M., PINTO, A. C., CREED, J. C. 2012. Proximity to competitors changes secondary metabolites of non-indigenous cup corals, *Tubastraea* spp., in the southwest Atlantic. *Marine Biology*. 159: 1551–1559.

LAGES, B. G., FLEURY B. G., MENEGOLA C., CREED J. C. 2011. Change in tropical rocky shore communities due to an alien coral invasion. *Marine Ecology-Progress Series*. 438: 85-96.

LAGES, B. G., FLEURY, B. G., PINTO, A. C., CREED, J. C. 2010a. Chemical defenses against generalist fish predators and fouling organisms in two invasive ahermatypic corals in the genus *Tubastraea*. *Marine Ecology-An Evolutionary Perspective*, 2010, 31, 473–482.

LAGES, B. G., FLEURY, B. G., REZENDE, C. M., PINTO, A. C., CREED, J. C. 2010b. Chemical composition and release in situ due to injury of the invasive coral *tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia). *Brazilian Journal of Oceanography*. 58: 47–56.

LEAL, M. C., PUGA, J., SERÔDIO, J., GOMES, N. C., 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: e30580.

LEONG, W., PAWLIK, J. R. 2010. Evidence of a Resource Trade-Off between Growth and Chemical Defenses among Caribbean Coral Reef Sponges. *Marine Ecology Progress Series*. 406: 71-78.

LI, C., CHEN, J., HUA T. 1998. Precambrian sponges with cellular structures. *Science* 279: 879-882.

LI, X., HU, A. Y., SANCHEZ-MOLINA, I., ZHOU, Y., YU, F., HAQUE, S. A., WU, W., HUA, J., TIAN, H., ROBERTSON, N. 2015. Insight into quinoxaline containing D–p–A dyes for dye-sensitized solar cells with cobalt and iodine based electrolytes: the effect of p-bridge on the HOMO energy level and photovoltaic performance. *Journal of Materials Chemistry A*. 3: 21733-21743.

- LINDEL, T., HOFFMANN, H., HOCHGURTEL, M., PAWLIK, J. R. 2000. Structure-activity relationship of inhibition of fish feeding by sponge-derived and synthetic pyrrole-imidazole alkaloids. *Journal of Chemical Ecology*. 26: 1477.
- LOPEZ-VICTORIA, M., ZEA, S. 2004. Current trends of space occupation by encrusting excavating sponges on Colombian coral reefs. *PSZNI: Marine Ecology*. 26: 33–41.
- LUTER, H. M., DUCKWORTH, A. R. 2010. Influence of size and spatial competition on the bioactivity of coral reef sponges. *Biochemical Systematics and Ecology* 38: 146–153.
- LUTER, H. M., DUCKWORTH, A. R., SYMS, C. 2007. Cytotoxic and anti-microbial activity of the sponge *Iotrochota* sp. as a function of size and spatial competitors. *Marine Biology Research* 3: 312–318.
- MAGURRAN A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton (NJ): Princeton University Press. 178 p.
- MALIAO, R. J., TURINGAN, R. G., LIN, J. 2008. Phase-shift in coral reef communities in the Florida Keys National Marine Sanctuary (FKNMS), USA. *Marine Biology*. 154: 841–853.
- MANTELATTO, M. C. 2012. Distribuição e abundância do coral invasor *Tubastraea* spp. 2012. 122f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução)- Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- MANTELATTO, M. C., FLEURY, B. G., MENEGOLA, C., CREED, J. C. 2013. Cost-benefit of different methods for monitoring invasive corals on tropical rocky reefs in the southwest Atlantic. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. v. 449, pp. 129-134.
- MARINLIT. 2016. MarinLit: A Marine Literature Database. Acessado em <http://www.chem.canterbury.ac.nz/marinlit/marinlit.shtml> em 19 de fevereiro de 2016.
- MC CLINTOCK, J. B. 1987. Investigation of the relationship between invertebrate predation and biochemical composition, energy content, spicule armament and toxicity of benthic sponges at McMurdo Sound, Antarctica. *Marine Biology* 94:479–487.
- MC CLINTOCK, J. B., BAKER, B. J. 2001. *Marine Chemical Ecology*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA. 624p.
- MC LEAN E. L. 2006. Ecology of the encrusting sponge *Desmapsamma anchorata*. Dissertação. University of Puerto Rico. 93p.

MC LEAN, E. L., RÜTZLER, K., POOLER, P. S. 2014. Sponge Overgrowth When Interacting with Octocoral. *Open Journal of Marine Science*. 5: 64-80.

MC LEAN, E. L., YOSHIKA, P. M. 2007. Associations and interactions between gorgonians and sponges. In: Custódio MR, Lôbo-Hajdu G, Hajdu E, Muricy G, editors. *Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability*. Rio de Janeiro (RJ): Museu Nacional. p. 443-448.

MC LEAN, E. L., YOSHIOKA, P. M. 2008. Substratum effects on the growth and survivorship of the sponge *Desmapsamma anchorata*. *Caribbean Journal of Science*. 44(1): 83-89.

MEHBUD, M. F., LEI, J., FRANCO, C., ZHANG, W. 2014. Marine Sponge Derived Natural Products between 2001 and 2010: Trends and Opportunities for Discovery of Bioactives. *Marine Drugs*. 12: 4539-4577.

MEURER, B. C., LAGES, N. S., PEREIRA, A. O., PALHANO, S., MAGALHÃES, G. M. 2010. First record of native species of sponge overgrowing invasive corals *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis* in Brazil. *Marine Biodiversity Records* 3:62.

MORINAKA, B. I., PAWLIK, J. R., MOLINSKI, T. F. 2009. Amaro-xocanes A and B: Sulfated dimeric sterols defend the Caribbean coral reef sponge *Phorbos amaranthus* from fish predators. *Journal of Natural Products*. 72: 259–264.

MOURA, L. A. 2011. Avaliação dos efeitos de extratos de organismos marinhos sobre a agregação plaquetária e a coagulação sanguínea. Dissertação de mestrado em Biologia marinha. Universidade Federal Fluminense. Niteroi. 145p.

NORSTRÖM, A., NYSTRÖM, M., LOKRANTZ, J., FOLKE, C. 2009. Alternative states on coral reefs: beyond coral–macroalgal phase shifts. *Marine Ecology Progress Series*. 376: 295–306.

OKSANEN, J., BLANCHET, F. G., KINDT, R., LEGENDRE, P., MINCHIN, P. R., O'HARA, R. B., SIMPSON, G. L., SOLYMOS, P., STEVENS, M. H. H., WAGNER, H. 2015. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.3-1. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>

OLIVEIRA, J. H. H. L., NASCIMENTO, A. M., KOSSUGA, M. H., CAVALCANTI, B. C., PESSOA, C. O., MORAES, M. O., MACEDO, M. L., FERREIRA, A. G., HAJDU, E., PINHEIRO, U. S., BERLINCK, R. G. S. 2007. Cytotoxic Alkylpiperidine Alkaloids from the Brazilian Marine Sponge *Pachychalina alcaloidifera*. *Journal of Natural Products*. 70 (4): 538–543.

OSINGA, R., ARMSTRONG, E., BURGESS, J. G., *et al.* 2001. Spongemicrobe Associations and Their Importance for Sponge Bioprocess Engineering, *Hydrobiologia*. 461(1): 55–62.

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*. *Journal Chemical Ecology*. 31: 1161–1174.

PAWLIK, J. R. 1992. Chemical ecology of the settlement of benthic marine invertebrates. *Oceanography and Marine Biology – An Annual Review*. 30: 273–355.

PAWLIK, J. R. 1993. Marine invertebrate chemical defenses. *Chemical Reviews*. 93(5):1911–1922.

PAWLIK, J. R. 1997. Fish predation on Caribbean reef sponges: an emerging perspective of chemical defenses. *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium 2*: 1255–1258.

PAWLIK, J. R. 1998. Coral reef sponges: Do predatory fishes affect their distributions? *Limnology and Oceanography*. 43:1396–1399.

PAWLIK, J. R. 2011. The chemical ecology of sponges on Caribbean reefs: natural products shape natural systems. *Bioscience*. 61: 888–898.

PAWLIK, J. R., AMSLER, C. D., RITSON-WILLIAMS, R., MCCLINTOCK, J. B., BAKER, B. J., PAUL, V. J. 2013. Marine chemical ecology: A science born of scuba. *In: Research and Discoveries: The revolution of Science through Scuba*. Edited by: Lang, MA, Marinelli, RL, Roberts, SJ, and Taylor, PR. Smithsonian Contributions to the Marine Sciences, Washington, DC: Smithsonian Institution Scholarly Press. 39: 53–69.

PAWLIK, J. R., CHANAS, B., TOONEN, R. J., FENICAL, W. 1995. Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish. I. Chemical deterrence. *Marine Ecology Progress Series*. 127:183–194.

PAWLIK, J. R., HENKEL, T. P., MCMURRAY, S. E., LÓPEZ-LEGENTIL, S., LOH, T. L., ROHDE, S. 2008. Patterns of sponge recruitment and growth on a shipwreck corroborate chemical defense resource trade-off. *Marine Ecology Progress Series*. 368: 137–143.

PAWLIK, J. R., KERNAN, M. R., MOLINSKI, T. F., HARPER, M. K., FAULKNER, D. J. 1988. Defensive chemicals of the Spanish dancer nudibranch *Hexabranhus sanguineus* and its egg ribbons: Macrolides derived from a sponge diet. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 119:99–109.

PAWLIK, J. R., MCFALL, G., ZEA, S. 2002. Does the odor from sponges of the genus *Ircinia* protect them from fish predators? *Journal of Chemical Ecology*, 28:1103–1115.

PEREIRA, A. P. V. 2007. Caracterização fisionômica da comunidade marinha bentônica de substrato consolidado do infralitoral do costão oeste da Enseada das Palmas, Parque Estadual da Ilha Anchieta, Ubatuba, SP, Brasil. Tese de doutorado em ciências apresentado ao Instituto de Biocinências da Universidade de São Paulo. São Paulo. 330p.

PETRONILHO, E. C. 2008. Avaliação do uso de produtos naturais marinhos como biomonitoradores de poluição orgânica. Monografia de tecnólogo em Química de produtos naturais. Centro Federal de Educação Tecnológica de Química. Niterói/ RJ. 54f.

QUIJANO, L., CRUZ, F., NAVARRETE, I., GOMEZ, P., RIOS, T. 1994. Alkyl glycerol monoethers in the marine sponge *Desmapsamma anchorata*. *Lipids*. 29(10): 731-734.

R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

RHOADES, D. F. 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: Rosenthal, GA, Janzen, DH (eds) *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolism*. Academic Press, New York, p 3–54.

RIBEIRO, S. M. 2008. Ecologia química de esponjas marinhas: multifuncionalidade, variação congênica, intrapopulacional, latitudinal e estádios de vida. 151f. Tese de Doutorado em Biologia Marinha. Universidade Federal Fluminense. Niterói, RJ.

RIBEIRO, S. M., CASSIANO, K. M., CAVALCANTI, D. N., TEIXEIRA, V. L., PEREIRA, R. C. 2012. Isolated and synergistic effects of chemical and structural defenses of two species of *Tethya* (Porifera: Demospongiae). *Journal of Sea Research*. 2012. 68: 57–62.

ROD'KINA, S. A. 2005. Fatty Acids and other lipids of Marine Sponges. *Russian Journal of Marine Biology*. 31: S49-S60.

RODRIGUES, V. A., FERREIRA, Y. C. S., FORTUNATO, H. F. M., SILVA, A. G., FLEURY, B. G. 2015. Interações ecológicas de esponja nativa e corais invasores *Tubastraea* spp. (Scleractina) na Baía de Ilha Grande, RJ. 24^a Semana de Iniciação Científica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 330p.

ROSA, M. J. S. 2014. Caracterização de amostras de resina por CG-MS, RMN e Análise Quimiométrica. Composição e Origem. 11f. Dissertação (Mestrado em química Química, Área de especialização em Controlo de Qualidade e Ambiente). Universidade de Coimbra.

RÜTZLER, K., MALDONADO, M., PIANTONI, C., RIESGO, A. 2007. *Iotrochota* revisited: a new sponge and review of species from the western tropical Atlantic (Poecilosclerida:Iotrochotidae). *Invertebrate Systematics*, 21, 173–185.

RUZICKA, R., GLEASON, D. F. 2009. Sponge community structure and anti-predator defenses on temperate reefs of the South Atlantic Bight. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 380: 36–46.

RYU, G., MATSUNAGA, S., FUSETANI, N. 1994. Discodermis F-H, Cytotoxic and Antimicrobial tetradecapeptides from the marine sponge *Discodemia tiiensis*: structure revision of discodermis A-D1. *Tetrahedron*. 50: 13409-13416.

SACRISTA-N-SORIANO, O., BANAIGS, B., CASAMAYOR, E. O., BECERRO, M. A. 2011. Exploring the links between natural products and bacterial assemblages in the sponge *Aplysina aerophoba*. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 862–870.

SANTOS, M. F. B. 2013. Predação, eutrofização e respostas metabólicas em comunidades incrustantes de substratos artificiais na Baía de Ilha Grande, RJ. Dissertação de mestrado, Programa de Pós Graduação em Ecologia e Evolução, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 111f.

SANTOS, M. F. C. 2014. Alcaloides guanidínicos da esponja marinha *Monanchora arbuscula*: isolamento, identificação e atividades biológicas. Tese de doutorado (Química orgânica e biológica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo. 296f.

SCALA, F., FATTORUSSO, E., MENNA, M., TAGLIALATELA-SCAFATI, O., TIERNEY, M., KAISER, M., TASDEMIR, D. 2010. Bromopyrrole alkaloids as lead compounds against protozoan parasites. *Marine Drugs* 8: 2162.

SCHUPP, P., EDER, C., PAUL, V., PROKSCH, P. 1999. Distribution of secondary metabolites in the sponge *Oceanapia* sp. and its ecological implications. *Marine Biology*. 135: 573-580.

SEBENS, K. P. 1987. The ecology of indeterminate growth in animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 371– 407.

SILVA, A. G. 2014. *Vivendo com o inimigo*: Competição entre os corais invasores *Tubastraea* spp. e a esponja *Desmapsamma anchorata* na Baía de Ilha Grande, RJ. 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SILVA, F. C., SILVA, A. G., FORTUNATO, H., LOBO-HADJU, G., FLEURY, B. G. 2013. Quantificação de diferentes interações esponja-coral invasor (*Tubastraea* spp.) em comunidades bentônicas da Baía de Ilha Grande, sudeste do Brasil. Congresso Latinoamericano de Ciências do Mar. Apresentação oral. Uruguai.

SINGH, A., THAKUR, N. L. 2015. Significance of investigating allelopathic interactions of marine organisms in the discovery and development of cytotoxic compounds. *Chemico-Biological Interactions* xxx: 1-13.

STEINBERG, P. D., DE NYS, R. 2002. Chemical mediation of colonization of seaweed surfaces. *Journal of Phycology*. 38:621–9.

SUCHANEK, T. H., GREEN, D. J. 1981. Interspecific competition between *Palythoa caribaeorum* and other sessile invertebrates on st. croix reefs, U.S. Virgin Islands. *Proceedings of the Fourth International Coral Reef Symposium, Manila*. 2: 679-684.

SUDATTI, D. B., RODRIGUES, S. V., COUTINHO, R., DA GAMA, B. A. P., SALGADO, L. T., FILHO, G. M. A., PEREIRA, R. C. 2008. Transport and defensive role of elatol at the surface of the red seaweed *Laurencia obtusa* (ceramiales, rhodophyta). *Journal of Phycology*. 44: 584–591.

TEIXEIRA, V. L. 2009. Produtos Naturais Marinhos. *In*: PEREIRA, R. C., SOARES-GOMES, A. (Org.) *Biologia Marinha*. Editora Interciência, Rio de Janeiro.

THACKER, R. W., BECERRO, M. A., LUMBANG, W. A., PAUL, V. J. 1998. Allelopathic Interactions between sponges on a tropical reef. *Ecology*, 79:1740–1750.

THOMPSON, J. E. 1985. Exudation of biologically-active metabolites in the sponge *Aplysina fistularis*. 1. Biological evidence. *Marine Biology*, 88:23–26.

THOMPSON, J. E., BARROWS, K. D., AND FAULKNER, D. J. 1983. Localization of two brominated metabolites, aerothionin and homoaerothionin, in spherulous cells of the marine sponge *Aplysina fistularis* (= *Verongia thiona*), *Acta Zoologica*. 64: 199.

THOMPSON, J. E., MURPHY, P. T., BERQUIST, P. R., EVANS, E. A. 1987. Environmentally induced variation in diterpene composition of the marine sponge *Rhopaloeides odorabile*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 15: 595-606.

THOMS, C., EBEL, R., PROKSCH, P. 2006. Activated chemical defense in *Aplysina* sponges revisited. *Journal of Chemical Ecology*. 32: 97–123.

THOMS, C., WOLFF, M., PADMAKUMAR, K., EBEL, R., PROKSCH, P. 2004. Chemical defense of Mediterranean sponges *Aplysina cavernicola* and *Aplysina aerophoba*. *Zeitschrift für Naturforschung*. A *Journal of Bioscience*. 59: 113–122.

TORRES, Y. R., BERLINCK, R. G. S., NASCIMENTO, G. G. F., FORTIER, S. C., PESSOA, C., MORAES, M. O. 2002. Antibacterial activity against resistant bacteria and cytotoxicity of four alkaloid toxins isolated from the marine sponge *Arenosclera brasiliensis*. *Toxicon*. 40(7): 885–891.

TURON, X., BECERRO, M. A., URIZ, M. J. 1996. Seasonal patterns of toxicity in benthic invertebrates: the encrusting sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida). *Oikos*. 75: 33-40.

TURON, X., BECERRO, M. A., URIZ, M. J. 2000. Distribution of brominated compounds within the sponge *Aplysina aerophoba*: coupling of X-ray microanalysis with cryofixation techniques. *Cell and Tissue Research* 301: 311–322.

TURON, X., TARJUELO, I., URIZ, M. J. 1998. Growth dynamics and mortality of the encrusting sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) in contrasting habitats: correlation with population structure and investment in defence. *Functional Ecology* 12: 631–639.

URIZ, M. J., BECERRO, M. A., TUR, J. M., TURON, X. 1996. Location of toxicity within the Mediterranean sponge *Crambe crambe* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Mar Biol.* 124:583–590.

VANCE, R. R. 1979. Effects of grazing by the sea urchin *Centrostephanus coronatus* on prey community composition. *Ecology.* 60:537–546.

VAN DER VYVER, G., HUYSECOM, J., BRAEKMAN, J. C., DALOZE, D. 1990. Screening and bioassays for toxic substances in sponges from western Mediterranean Sea and North Brittany. *Vie Milieu* 40:285–292.

VAN SOEST, R. W. M; BOURY-ESNAULT, N.; HOOPER, J. N. A.; RÜTZLER, K.; DE VOOGD, N. J.; ALVAREZ DE GLASBY, B.; HAJDU, E.; PISERA, A. B.; MANCONI, R.; SCHOENBERG, C.; JANUSSEN, D.; TABACHNICK, K. R.; KLAUTAU, M.; PICTON, B.; KELLY, M.; VACELET, J.; DOHRMANN, M.; DÍAZ, M. C.; CÁRDENAS, P. 2016. World Porifera Database. Acessado em <http://www.marinespecies.org/porifera> em 15 de fevereiro de 2016.

VILLAÇA R., PITOMBO F. B. 1997. Benthic communities of shallow- water reefs of Abrolhos, Brazil. *Revista Brasileira de Oceanografia.* v.45. pp. 35–43.

VICENTE, V. P. 1989. Regional commercial sponge extinctions in the West Indies: Are recent climatic changes responsible? *Mar Ecol.* 10(2):179-191

VU, V. Q. 2011. ggbiplot: a ggplot2 based biplot. r package version 0.55. <http://github.com/vqv/ggbiplot>.

WALTERS, K. D., PAWLIK, J. R. 2005. Is There a Trade-Off between Wound-Healing and Chemical Defenses among Caribbean Reef Sponges? *Integrative and Comparative Biology,* 45: 352-358.

WARD-PAIGE, C., RISK, M. J., SHERWOOD, O. A., JAAP, W. C. 2005. Clionid sponge surveys on the Florida Reef Tract suggest land-based nutrient inputs. *Marine Pollution Bulletin,* 51, 570–579.

WICKHAM, H., e CHANG, W. 2015. devtools: Tools to Make DevelopingR Packages Easier. R package version 1.9.1. <http://CRAN.R-project.org/package=devtools>.

WILKINSON, C. R. 1978. Microbial Associations in Sponges. I. Ecology, Physiology and Microbial Populations of Coral Reef Sponges. *Marine Biology* 49:161-167.

WRIGHT, J. T., BENKENDORFF, K., DAVIS, A. R. 1997. Habitat associated differences in temperate sponge assemblages: the importance of chemical defence. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 213: 199–213.

WULFF L. J. 2005. Trade-offs in resistance to competitors and predators, and their effects on the diversity of tropical marine sponges. *Journal of Animal Ecology*. 74: 313–321.

ZEA, S. 1987. Esponjas del Caribe Colombiano. Pg 147-149.

ZHU, L. S., LAPKO, V. N., LEE, J. W., BASIR, Y. J., KAFONEK, C., OLSEN, R. F., BRISCOE, C. 2006. A general approach for the quantitative analysis of biphosphonates in human serum and urine by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20: 3421-3426.

Anexo A: Lista das substâncias identificadas por classes, com seus códigos, tempos de retenção e abundâncias médias (%) das amostras intra e interpopulacionais de *D. anchorata*.

Códigos	Nomes das Substâncias	Tempo de retenção (min.)	Abundância média (%)
ÁCIDOS GRAXOS			
S2	Éster metílico do ácido dodecanoico	18.603	0,060
S3	Éster metílico do ácido 10-metil-undecanoico	18.621	0,021
S4	Éster metílico do ácido 3-metil-tridecanoico	19.496	0,052
S5	Éster metílico do ácido 13,16-octadecadienoico	19.516	0,002
S6	Éster metílico do ácido 12-metil-tridecanoico	22.400	0,002
S7	Éster metílico do ácido metil tetradecanoico	23.192	0,286
S8	Éster etílico do ácido tetradecanoico	24.675	0,003
S9	Éster etílico do ácido hexadecanoico	24.676	0,007
S10	Éster metílico do ácido 12-metil-tetradecanoico	24.703	0,033
S11	Éster metílico do ácido pentadecanoico	25.323	0,086
S13	Éster metílico do ácido 9(Z)-hexadecenoico	26.900	0,467
S15	éster metílico do ácido hexadecanoico	27.366	2,390
S17	Éster metílico do ácido 7(Z)- metil-6-hexadecenoico	28.368	0,086
S18	Éster metílico do ácido 15-metil-hexadecanoico	28.587	0,027
S19	Éster etílico do ácido hexadecanoico	28.686	0,183
S20	Éster metílico do ácido 14 metil hexadecanoico	28.748	0,124
S21	Éster metílico do ácido 10(Z)-heptadecenoico	28.816	0,045
S22	Éster metílico do ácido 2- metoxi-5-hexadecenoico	28.995	0,059
S23	Éster metílico do ácido heptadecanoico	29.299	0,152
S24	Éster metílico do ácido 9(Z),12(Z)-octadecadienoico	30.517	0,863
S25	Éster metílico do ácido 17-metil octadecanoico	31.925	0,012
S26	Éster etílico do ácido octadecanoico	32.357	0,018
S27	Éster metílico do ácido nonadecanoico	32.936	0,422
S28	Éster metílico do ácido 5(Z),8(Z),11(Z),14(Z) icosatetraenoico	33.378	0,466
S29	Éster metílico do ácido 5(Z),8(Z),11(Z),14(Z),17(Z) icosapentaenoico	33.498	0,256
S30	Éster metílico do ácido 7,10,13-icosatrienoico	33.740	0,004
S31	Éster metílico do ácido 18- metil-nonadecanoico	33.913	0,049
S32	Éster metílico do ácido 11(Z)-icosenoico	34.316	0,026
S33	Éster metílico do ácido icosanoico	34.644	1,025
S34	Éster metílico do ácido 14-metil icosanoico	35.476	0,017
S35	Éster metílico do ácido 18-metil-icosanoico	35.705	0,009
S36	Éster metílico do ácido henicosanoico	36.299	0,120
S37	Éster metílico do ácido 4,7,10,13,16-docosapentaenoico	36.432	0,074
S38	Éster metílico do ácido 4(Z),7(Z),10(Z),13(Z),16(Z),19(Z)-docosahexaenoico	36.532	0,067

S39	Éster metílico do ácido 13(Z)-docosenoico	37.591	0,062
S40	Éster metílico do ácido docosanoico	37.859	1,200
S41	Éster metílico do ácido-21metil-docosenoico	38.852	0,049
S42	Ácido 22-tricosenoico	39.107	0,377
S43	Éster metílico do ácido tricosanoico	39.376	0,022
S44	Éster metílico do ácido - 5,9-metil-tetracosadienoico	40.172	0,241
S45	Éster metílico do ácido 15(Z)-tetracosenoico	40.588	1,442
S46	Éster metílico do ácido tetracosanoico	40.845	0,614
S47	Éster metílico do ácido 23-metil tetracosa-5,9-dienoico	41.626	1,235
S48	Éster metílico do ácido pentacosanoico	42.289	0,079
S50	Éster metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico	43.071	17,390
S53	Éster metílico do ácido hexacosanoico	43.668	0,045
S59	Éster metílico do ácido 5,9,21-octacosatrienoico	45.434	0,253
S71	Éster hexadecil do ácido hexadecanoico	49.962	0,174
ALCALOIDES			
S12	Éster metílico do ácido 3-Carboxílico-1H-Indol	25.794	0,014
S14	Hexahidro-3-(2-metilpropil)-pirrol[1,2-a]pirazina-1,4-diona	27.201	0,001
HIDROCARBONETOS			
S51	17-pentatriaconteno	43.248	0,761
ALDEÍDOS			
S1	2(E)-Decenal	11.909	0,003
S16	14(Z)-metil-8-hexadecenal	27.867	0,022
ESTERÓIS			
S49	colest-4,6-dien-3 β -ol	42.660	0,030
S52	26,27-dinorergost-5-en-3 β ,24-diol	43.522	0,373
S54	(22E)- acetato de ergosta-5,22-dien-3 β -ol	44.324	0,029
S55	acetato-estigmasta-5,22(Z)-dien-3 β -ol	44.800	0,003
S56	colest-5,24-dien-3 β -ol (desmosterol)	45.157	2,580
S57	colest-5-en-3 β -metoxi	45.170	0,093
S58	colest-5,22-dien-3 β -ol	45.373	3,222
S60	colest-5-en-3 β -ol (colesterol)	45.924	24,366
S61	(22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassiasterol)	46.482	8,668
S62	24-propilideno-colest-5-en-3 β -ol	47.275	3,780
S63	24R-metilcolest-5-em-3 β -ol (campésterol)	47.348	2,767
S64	colest-4-en-3-ona	47.598	0,358
S65	colest-5-en-3-ona	47.620	0,075
S66	(22E,24S)-24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (estigmasterol)	47.776	12,027
S67	ergosta-4,22-dien-3-one	48.276	0,043
S68	(24S) estigmast-5-en-3 β -ol (gama-sitosterol)	48.764	2,897
S69	Estigmast-5-en-3-ol (beta-sitosterol)	48.806	6,796
S70	4,22-colestadien-3-ona	49.930	0,136
S72	5 α -colest-7-ene-3 β -ol-6-ona	55.436	0,853

ANEXO B: Abundância (%) das substâncias por classes nas amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata*.

ACIDOS GRAXOS																				
	94a	94c	95a	95c	96a	96c	97a	97c	98a	98c	99a	99c	100a	100c	101a	101c	102a	103a	103c	104a
S2	0,19	0,00	0,09	0,00	0,19	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,09	0,00	0,00	0,00	0,13	0,12	0,00
S3	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S4	0,00	0,00	0,37	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S7	0,54	0,47	0,09	0,06	0,30	0,14	0,19	0,13	0,09	0,38	0,33	0,27	0,54	0,34	0,52	0,66	0,60	0,19	0,00	0,32
S8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S10	0,00	0,00	0,12	0,11	0,16	0,00	0,15	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S11	0,33	0,29	0,07	0,04	0,16	0,00	0,12	0,09	0,04	0,20	0,06	0,07	0,09	0,07	0,11	0,10	0,10	0,08	0,09	0,00
S13	1,98	2,23	0,12	0,04	0,82	0,00	0,61	0,00	0,21	0,96	0,62	0,45	0,97	0,58	0,52	0,55	0,64	0,55	0,14	0,47
S15	5,24	4,72	1,27	0,81	4,25	2,00	0,13	2,26	1,00	4,41	2,12	2,16	3,40	2,27	2,78	3,30	3,44	1,61	1,53	1,73
S17	0,21	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,40	0,39	0,64	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S18	0,00	0,14	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,09	0,00	0,08	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S19	5,24	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,26	0,22	0,00	0,00	0,00	0,11	0,04	0,00
S20	0,14	0,24	0,08	0,05	0,14	0,00	0,13	0,00	0,00	0,12	0,19	0,18	0,26	0,22	0,26	0,00	0,27	0,04	0,00	0,16
S21	0,62	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S22	0,00	0,36	0,18	0,05	0,00	0,14	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,13	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00
S23	0,52	0,50	0,19	0,08	0,33	0,00	0,20	0,30	0,00	0,37	0,00	0,14	0,15	0,13	0,30	0,19	0,32	0,00	0,00	0,09
S24	0,00	2,16	0,00	0,00	4,10	5,26	0,00	3,56	0,00	0,00	1,51	0,00	1,29	1,47	0,00	0,00	2,33	1,79	0,00	1,08
S25	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S27	0,54	0,45	0,27	0,18	0,32	0,23	0,32	0,27	0,27	0,35	0,44	0,59	0,60	0,58	0,57	0,66	0,60	0,23	0,19	0,40
S28	0,86	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,04	0,29	1,57	2,30	2,12	2,47	0,26	0,41	0,56	0,00	0,00	1,24
S29	0,69	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,65	1,22	0,88	1,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42
S30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S31	0,00	0,17	0,14	0,08	0,00	0,00	0,08	0,00	0,13	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S33	1,34	1,16	0,72	0,58	0,80	1,01	0,78	0,73	0,92	0,91	0,89	1,02	1,01	0,90	1,08	1,27	1,17	1,25	0,87	0,78
S34	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S36	0,00	0,11	0,08	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,09	0,12	0,07	0,00	0,13	0,20	0,25	0,19	0,13

ACIDOS GRAXOS (continuação)																				
	94a	94c	95a	95c	96a	96c	97a	97c	98a	98c	99a	99c	100a	100c	101a	101c	102a	103a	103c	104a
S37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72
S38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38
S39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S40	0,85	0,72	0,53	0,43	0,51	0,55	0,43	0,03	0,53	0,45	2,18	1,09	1,07	0,60	1,28	1,28	2,21	2,69	0,00	1,15
S41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00
S42	0,00	0,32	0,24	0,20	0,46	0,28	0,00	0,00	0,24	0,29	0,00	0,00	0,00	0,33	0,88	0,62	0,00	0,00	0,56	0,00
S43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
S44	0,43	0,50	0,20	0,17	0,00	0,26	0,35	0,00	0,49	0,19	0,00	0,54	0,73	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,44
S45	1,58	1,29	1,38	11,50	0,83	1,12	0,76	0,88	1,32	0,91	0,86	1,11	0,93	0,76	0,82	0,77	0,57	1,49	1,26	0,75
S46	0,32	1,65	0,20	0,17	0,10	0,11	0,10	0,12	0,15	0,10	0,59	0,46	0,51	0,53	0,57	0,51	0,63	1,07	0,75	0,53
S47	1,63	1,99	1,44	1,11	0,84	1,30	1,32	0,82	1,73	0,75	1,41	1,58	1,76	1,67	1,01	1,00	0,67	1,07	1,34	1,41
S48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,11	0,00	0,00	0,09	0,07	0,06	0,14	0,11	0,06
S50	22,90	22,98	19,30	18,12	15,60	27,25	19,02	20,02	20,64	12,81	21,74	16,16	0,23	21,20	15,30	16,68	16,89	20,70	20,93	17,45
S53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a	115c	116c
S2	0,09	0,14	0,00	0,00	0,00	0,11	0,06	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,08	0,00	0,06	0,00	0,09
S3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,11	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
S4	0,00	0,13	0,18	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,22	0,28	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,10	0,10	0,08	0,06	0,00
S5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
S6	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S7	0,35	0,00	0,06	0,00	0,12	0,00	0,07	0,12	0,07	0,18	0,16	0,35	0,20	0,38	0,44	0,36	0,25	0,14	0,21	0,43
S8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S9	0,00	0,05	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00
S10	0,00	0,22	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,08	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
S11	0,05	0,04	0,00	0,00	0,05	0,10	0,06	0,07	0,04	0,06	0,00	0,13	0,08	0,12	0,09	0,15	0,06	0,04	0,08	0,11
S13	0,62	0,17	0,00	0,61	0,58	0,57	0,24	0,47	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,39	0,00	0,70	0,18	0,44	0,54
S15	1,93	1,37	0,64	1,79	1,62	2,01	1,06	1,27	1,10	1,57	1,47	2,27	1,41	3,22	3,44	3,19	2,04	1,32	2,32	3,46
S17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,09	0,19	0,00
S18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,08	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,07	0,08
S19	0,00	0,09	0,00	0,11	0,10	0,16	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,06	0,04	0,00	0,14	0,11	0,11	0,10	0,00	0,11
S20	0,00	0,09	0,00	0,11	0,00	0,00	0,17	0,13	0,10	0,17	0,15	0,08	0,08	0,24	0,19	0,16	0,17	0,10	0,23	0,14

ÁCIDOS GRAXOS (continuação)																				
	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a	115c	116c
S21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S22	0,11	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,13	0,14	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,11	0,12	0,00
S23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,21	0,09	0,10	0,08	0,06	0,00	0,08	0,03	0,43	0,16	0,73	0,09	0,00	0,11	0,15
S24	1,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,23	0,00	0,00	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,08	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,10	0,06
S26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,03	0,04	0,00	0,02
S27	0,40	0,19	0,23	0,23	0,38	0,32	0,21	0,26	0,43	0,41	0,07	0,00	0,00	0,65	0,66	0,75	0,36	0,23	0,50	0,84
S28	1,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,27	0,13	0,77	0,15
S29	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,27	0,00	0,32	0,00
S30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00
S31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,15	0,17	0,09	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,12	0,00	0,10	0,00	0,00
S32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00
S33	0,79	0,98	1,19	1,17	1,43	1,43	0,77	0,96	1,11	1,25	0,21	0,46	0,46	1,35	1,48	1,67	0,85	0,68	1,19	2,21
S34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,17	0,12	0,00	0,00	0,00
S36	0,00	0,19	0,24	0,22	0,25	0,31	0,18	0,30	0,24	0,30	0,00	0,19	0,23	0,00	0,23	0,25	0,12	0,06	0,13	0,32
S37	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,19	0,00	0,33	0,00
S38	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00
S39	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,15	0,17	0,30	0,18	0,00	0,00	0,00	0,28	0,22	0,16	0,24	0,00	0,42	0,48
S40	1,07	1,72	2,11	1,99	1,98	2,88	1,52	2,49	2,05	2,48	1,10	2,06	2,21	1,07	2,02	1,98	1,01	0,54	0,66	0,00
S41	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,18	0,18	0,00	0,14	0,18	0,00	0,20	0,17	0,00	0,00	0,00	0,23
S42	0,00	0,57	0,66	0,54	0,00	0,76	0,41	0,48	0,95	0,00	0,36	0,78	0,96	0,96	0,55	0,97	0,70	0,46	0,45	0,71
S43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,10	0,11	0,10	0,08	0,00	0,08	0,09	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,15
S44	0,00	0,28	0,44	1,43	0,00	1,24	0,19	0,00	0,29	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00	0,37	0,00	0,00	0,88
S45	0,74	1,62	2,10	1,72	1,06	1,83	1,79	1,96	1,75	1,65	0,27	0,55	0,56	0,87	1,27	1,28	0,99	1,63	1,81	2,80
S46	0,49	0,77	1,14	0,96	0,90	1,23	0,76	1,16	0,98	1,30	0,41	1,13	1,18	0,40	0,96	0,95	0,53	0,26	0,31	1,37
S47	1,43	1,45	2,04	1,47	1,85	1,34	1,10	1,36	1,55	1,53	0,14	0,00	0,28	0,77	1,25	0,54	1,29	1,44	1,49	2,03
S48	0,05	0,12	0,16	0,15	0,17	0,18	0,13	0,17	0,23	0,24	0,00	0,25	0,30	0,00	0,13	0,12	0,08	0,00	0,00	0,27
S50	20,00	23,77	23,13	20,66	0,01	19,19	11,31	20,52	19,06	20,77	3,61	2,32	5,90	14,37	19,30	9,34	17,84	19,60	19,30	25,16
S53	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00	0,30	0,24	0,00	0,17	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54
S59	0,00	0,00	0,00	0,00	2,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,39
S71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ÁCIDOS GRAXOS (continuação)					
	117c	118a	118c	119a	119c
S2	0,10	0,20	0,13	0,00	0,24
S3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S4	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
S5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S7	0,38	0,67	0,77	0,36	0,64
S8	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00
S9	0,08	0,00	0,00	0,05	0,00
S10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S11	0,06	0,17	0,12	0,06	0,00
S13	0,37	0,77	0,62	0,32	0,77
S15	3,02	5,08	4,25	2,34	3,96
S17	0,22	0,00	0,21	0,20	0,38
S18	0,08	0,00	0,11	0,00	0,00
S19	0,27	0,00	0,39	0,13	0,17
S20	0,15	0,34	0,00	0,12	0,15
S21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S22	0,11	0,00	0,00	0,09	0,00
S23	0,12	0,17	0,17	0,11	0,00
S24	0,00	0,00	2,01	0,00	6,68
S25	0,03	0,00	0,00	0,02	0,00
S26	0,20	0,05	0,24	0,06	0,07
S27	0,54	0,54	0,58	0,52	1,59
S28	0,43	0,81	1,36	0,81	0,97
S29	0,00	0,74	1,76	0,58	0,99

ÁCIDOS GRAXOS (continuação)					
	117c	118a	118c	119a	119c
S30	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00
S31	0,22	0,00	0,12	0,17	0,00
S32	0,00	0,00	0,31	0,24	0,00
S33	1,26	1,19	1,06	0,99	0,81
S34	0,00	0,19	0,00	0,05	0,00
S35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S36	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00
S37	0,00	0,00	0,46	0,44	0,00
S38	0,00	0,00	1,01	0,48	0,00
S39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S40	1,26	0,00	0,41	0,36	0,44
S41	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00
S42	0,57	0,00	0,31	0,38	0,00
S43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S45	1,05	1,26	1,31	1,36	0,79
S46	0,57	0,19	0,19	0,18	0,12
S47	1,32	0,89	1,15	1,23	0,78
S48	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
S50	23,47	20,86	21,22	14,85	21,08
S53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ALCALOIDES (continuação)																				
	94a	94c	95a	95c	96a	96c	97a	97c	98a	98c	99a	99c	100a	100c	101a	101c	102a	103a	103c	
S12	0,00	0,00	0,04	0,02	0,07	0,07	0,08	0,00	0,03	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
S14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	104a	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a	
S12	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04	0,05	0,04	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,04	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
S14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	115c	116c	117c	118a	118c	119a	119c													
S12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00													
S14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00													

ALDEÍDOS																				
	94a	94c	95a	95c	96a	96c	97a	97c	98a	98c	99a	99c	100a	100c	101a	101c	102a	103a	103c	
S1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
S16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,09	0,09	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	
	104a	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a	
S1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
S16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,10	
	115c	116c	117c	118a	118c	119a	119c													
S1	0,00	0,05	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00													
S16	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00													

HIDROCARBONETOS																			
	94a	94c	95a	95c	96a	96c	97a	97c	98a	98c	99a	99c	100a	100c	101a	101c	102a	103a	103c
S51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,56	1,60	0,00	0,00	0,00
	104a	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a
S51	0,00	1,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,48	0,00	1,16	0,00	0,00
	116c	117c	118a	118c	119a	119c													
S51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00													

ESTEROÏS																			
	94a	94c	95a	95c	96a	96c	97a	97c	98a	98c	99a	99c	100a	100c	101a	101c	102a	103a	103c
S49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00
S52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,65	0,00	0,00	0,81
S54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S56	0,00	1,08	1,49	1,21	0,00	0,00	1,00	0,00	1,32	1,03	0,00	0,00	1,97	6,19	5,36	4,58	0,00	4,98	6,11
S57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S58	6,53	6,43	6,84	5,44	4,17	3,95	5,20	4,42	6,98	4,68	0,00	0,00	6,90	1,44	1,46	1,17	4,06	0,81	1,07
S60	23,12	20,75	25,05	22,20	27,11	23,74	26,25	27,89	25,89	26,19	21,61	21,94	24,92	25,64	24,53	24,19	27,74	27,19	27,17
S61	6,89	6,68	9,61	8,79	7,38	6,48	9,21	8,97	9,74	9,18	5,85	11,06	10,93	0,00	8,67	7,87	8,92	8,33	9,46
S62	2,29	2,00	3,08	2,75	3,27	3,71	3,92	3,18	3,67	3,22	3,32	4,21	3,30	0,00	3,02	3,51	2,64	4,38	4,62
S63	1,22	1,55	2,26	1,94	1,80	1,21	1,58	1,54	1,81	2,12	2,63	3,11	3,70	3,42	3,68	3,28	1,60	3,38	3,83
S64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S65	0,19	0,19	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S66	7,03	8,22	13,35	13,74	13,82	11,13	15,41	13,82	11,42	16,95	13,48	15,37	18,66	15,88	15,15	16,09	15,40	7,38	8,76
S67	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,12	10,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S69	6,59	7,16	10,85	10,04	12,01	9,83	0,00	0,00	10,95	12,38	8,85	9,67	11,67	10,17	8,75	8,84	8,16	9,77	9,89
S70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	104a	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a
S49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,53	0,00	0,45	0,00	0,00
S52	0,77	0,00	0,67	4,72	0,00	1,29	0,84	1,33	0,74	0,78	0,56	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62	0,00
S54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00
S56	5,87	5,39	5,16	6,59	6,10	5,69	5,31	6,02	6,02	1,53	1,14	1,39	0,00	1,09	1,28	1,20	1,51	6,02	1,40
S57	0,00	0,00	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S58	1,35	1,26	0,93	0,00	0,00	1,96	0,00	2,14	1,18	5,47	5,95	0,00	2,89	5,22	4,85	4,70	4,78	0,00	7,33
S60	22,14	20,65	26,07	21,59	24,91	30,14	26,01	20,72	25,26	22,26	22,55	29,24	16,52	20,14	28,66	23,51	27,13	23,61	25,56
S61	9,98	9,66	8,21	8,15	8,61	11,97	8,78	11,42	8,87	9,08	8,94	11,46	7,52	8,69	8,78	8,24	9,63	8,83	10,92
S62	3,02	2,84	3,75	4,19	5,30	7,57	4,64	2,42	3,40	3,54	2,59	0,00	2,24	3,64	4,88	4,68	3,78	3,74	3,73
S63	2,58	2,14	3,62	3,42	2,55	4,38	3,12	4,03	2,99	3,63	3,72	3,43	3,20	2,19	2,31	1,79	3,34	3,54	4,80
S64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,13	5,55	5,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S65	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,11	0,00	0,00

	104a	104c	105a	105c	106a	106c	107a	108a	108c	109a	109c	110a	110c	111a	112a	112c	113a	113c	115a
S66	14,95	14,20	7,11	7,05	9,46	11,26	7,82	12,68	8,55	13,42	12,75	24,64	14,20	17,68	14,82	13,02	16,23	14,96	9,37
S67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S68	0,00	0,00	9,65	8,53	0,00	12,32	9,05	9,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,92	0,00	7,33	0,00	0,00
S69	9,67	8,75	0,00	0,00	9,46	0,00	0,00	9,29	9,23	7,92	8,26	13,58	7,81	12,02	0,00	8,04	0,00	9,41	9,36
S70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,12	2,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,17	22,73	6,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	115c	116c	117c	118a	118c	119a	119c												
S49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00												
S52	0,00	0,00	0,74	0,00	0,00	1,15	0,00												
S54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25	0,00												
S55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00												
S56	7,68	0,00	1,03	0,00	0,78	1,56	0,00												
S57	0,43	1,14	0,00	1,20	0,00	0,00	0,00												
S58	0,00	0,00	5,57	3,70	4,30	6,52	3,34												
S60	25,23	17,63	24,91	26,77	22,49	24,40	25,25												
S61	10,04	7,31	8,23	7,81	8,15	9,65	7,13												
S62	3,18	5,26	4,11	8,10	8,43	5,93	5,05												
S63	4,89	0,00	2,63	2,69	2,22	3,57	2,04												
S64	0,00	3,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00												
S65	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00												
S66	8,03	5,32	7,45	5,48	4,94	8,51	6,31												
S67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00												
S68	0,00	5,75	0,00	9,62	8,17	10,65	10,28												
S69	8,18	0,00	9,04	0,00	0,00	0,19	0,00												
S70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00												
S72	0,00	6,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00												

ANEXO C: Índice de Variação Fisiológica entre alcaloides: ácidos graxos e alcaloides: esteróis das amostras intra e interpopulacional de *D. anchorata*.

Indivíduo	Região	Acaloides: Ac. Graxos	Acaloides: Esteróis
I94	A	0,0000	0,0000
I94	C	0,0000	0,0000
I95	A	0,0014	0,0005
I95	C	0,0005	0,0003
I96	A	0,0024	0,0010
I96	C	0,0018	0,0012
I97	A	0,0056	0,0019
I97	C	0,0000	0,0000
I98	A	0,0012	0,0005
I98	C	0,0020	0,0006
I99	A	0,0000	0,0000
I99	C	0,0000	0,0000
I100	A	0,0000	0,0000
I100	C	0,0000	0,0000
I101	A	0,0000	0,0000
I101	C	0,0000	0,0000
I102	A	0,0000	0,0000
I103	A	0,0000	0,0000
I103	C	0,0000	0,0000
I104	A	0,0000	0,0000
I104	C	0,0000	0,0000
I105	A	0,0000	0,0000
I105	C	0,0013	0,0007
I106	A	0,0011	0,0006

Indivíduo	Região	Acaloides: Ac. Graxos	Acaloides: Esteróis
I106	C	0,0034	0,0005
I107	A	0,0012	0,0006
I108	A	0,0007	0,0002
I108	C	0,0008	0,0004
I109	A	0,0000	0,0000
I109	C	0,0000	0,0000
I110	A	0,0000	0,0000
I110	C	0,0030	0,0004
I111	A	0,0036	0,0006
I112	A	0,0000	0,0000
I112	C	0,0000	0,0000
I113	A	0,0000	0,0000
I113	C	0,0000	0,0000
I115	A	0,0000	0,0000
I115	C	0,0000	0,0000
I116	C	0,0000	0,0000
I117	C	0,0000	0,0000
I118	A	0,0000	0,0000
I118	C	0,0000	0,0000
I119	A	0,0000	0,0000
I119	C	0,0000	0,0000

Legenda: A- região de base e C- região de extremidade.

ANEXO D: Lista das substâncias identificadas nas amostras temporais de *D. anchorata* por classes de produtos naturais, com seus códigos, tempos de retenção e abundâncias médias (%).

Códigos	Nomes das Substâncias	Tempos de retenção (min.)	Abundância média (%)
ÁCIDOS GRAXOS			
S2	Ester dimetilico do ácido hexanedioico	11.353	0,010
S5	Ester metilico do ácido decanoico	13.560	0,003
S6	Ester metilico do ácido dodecanoico	18.609	0,108
S7	Ester metilico do ácido 10-metilundecanoico	18.621	0,012
S8	Ester metilico do ácido 3-metiltridecanoico	19.500	0,079
S11	Ester metilico do ácido 12-metiltridecanoico	22.392	0,020
S12	Ester metílico do ácido metil tetradecanoico	23.185	1,301
S13	Ester metilico do ácido 12-metiltetradecanoico	24.731	0,053
S16	Ester metilico do ácido pentadecanoico	25.317	0,247
S18	Ester metilico do ácido 9(Z)-hexadecenoico	26.900	1,487
S20	Ester metilico do ácido hexadecanoico	27.388	5,090
S22	Ácido n-hexadecanoico	27.893	0,011
S23	Ester metilico do ácido 7(Z)- metil-6-hexadecenoico	28.408	0,324
S24	Ester etilico do ácido hexadecanoico	28.709	0,036
S25	Ester metilico do ácido-14 metil-hexadecanoico	28.750	0,356
S26	Ester metilico do ácido 10(Z)-heptadecenoico	28.816	0,007
S27	Ester metilico do ácido 2 metoxi 5-hexadecenoico	28.986	0,282
S28	Ester metilico do ácido heptadecanoico	29.302	0,277
S29	Ester metilico do ácido 9(Z),12(Z)-octadecadienoico	30.517	0,274
S30	Ester metilico do ácido 7- hidroxioctadecanoico	31.038	0,064
S31	Ester metilico do ácido 10-metil-octadecanoico	31.849	0,030
S32	Ester metilico do ácido 17 metil- octadecanoico	32.286	0,020
S33	Ester metilico do ácido nonadecanoico	32.931	0,735
S34	Ester metilico do ácido 5(Z),8(Z),11(Z),14(Z) icosatetraenoico	33.373	2,176
S35	Ester metilico do ácido 5(Z),8(Z),11(Z),14(Z),17(Z) icosapentaenoico	33.576	1,387
S36	Ester metilico do ácido 7,10,13-icosatrienoico	33.740	0,135
S37	Metil 18- metil-nonadecanoato	33.913	0,012
S38	Ester metilico do ácido 11(Z)-icosenoico	34.316	0,199
S39	Ester metilico do ácido icosanoico	34.641	1,348
S40	ester metílico do ácido 14-metil icosanoico	35.476	0,003
S41	Ester metilico do ácido henicosoico	36.293	0,247
S43	Ester metílico do ácido 4,7,10,13,16-docosapentaenoico	36.432	0,434
S44	Ester metilico do ácido 4(Z),7(Z),10(Z),13(Z),16(Z),19(Z)-docosahexaenoico	36.532	0,950
S45	Ester metilico do ácido 6,9,12,15-docosatetraenoico	36.676	0,071

S46	Ester metílico do ácido 13(Z)-docosenoico	37.591	0,035
S47	Ester metílico do ácido docosanoico	37.881	1,611
S49	Ester metílico do ácido tricosanoico	38.845	0,141
S50	Ester metílico do ácido-21metil-docosenoico	38.852	0,019
S51	Ácido 22-tricosenoico	39.107	0,035
S52	Ester metílico do ácido - 5,9-metil-tetracosadienoico	40.202	0,244
S53	Ester metílico do ácido 15(Z)-tetracosenoico	40.475	1,892
S54	Ester metílico do ácido tetracosanoico	40.847	1,261
S55	Ester metílico do ácido 23-metil tetracosano-5,9-dienoico	41.624	1,990
S56	Ester metílico do ácido pentacosanoico	42.270	0,239
S58	Ester metílico do ácido 5,9-hexacosadienoico	43.036	15,847
S59	éster metílico do ácido 17-hexacosenoico	43.372	2,994
S61	Ester metílico do ácido hexacosanoico	43.644	0,228
ALCALOIDES			
S3	2- etil-1,3,4-trimetil-3-pirazolin-5-one	13.322	0,304
S10	5-Bromo-1H-Indol	21.021	0,009
S14	4-Carboxaldeido-1H-Indol	24.803	0,066
S15	Ester metílico do ácido 3-Acético-1H-Indol	25.131	0,017
S17	Ester metílico do ácido 3-Carboxílico-1H-Indol	25.787	0,227
S19	Hexahidro-3-(2-metilpropil)-pirrolo[1,2-a]pirazine-1,4-dione	27.264	0,007
ÁLCOOIS			
S1	5- metil-5-octen-1-ol	9.321	0,006
S42	Acetato-7(Z)-metil-tetradecen-1-ol	36.374	0,028
S48	1-heptatriacotanol	38.498	0,031
ALDEÍDOS			
S4	2(E)-Decenal	11.909	0,012
S9	Tetradecanal	20.716	0,003
S21	14(Z)-metil-8-hexadecenal	27.867	0,006
ESTERÓIS			
S57	colest-4,6-dien-3 β -ol	42.675	0,237
S60	26,27-dinoregost-5-en-3 β ,24-diol	43.522	0,345
S62	colest-5,24-dien-3 β -ol (desmosterol)	45.157	3,775
S63	colest-5-en-3 β -metoxi	45.165	2,249
S64	colest-5,22-dien-3 β -ol	45.373	0,940
S65	colest-5-em-3 β -ol (colesterol)	45.924	21,768
S66	3 β -Hidroxi-5,7,22-ergostatriene (ergosterol)	47.116	0,007
S67	24R-metilcolest-5-em-3 β -ol (campesterol)	47.341	3,254
S68	colest-5-en-3-ona	47.620	0,044
S69	(22E,24S)-24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol (stigmasterol)	47.759	3,626
S70	(22E, 24S) ergosta-5,22-dien-3 β -ol (brassicasterol)	48.271	5,442
S71	(24S) estigmast-5-en-3 β -ol (gama-sitosterol)	48.722	9,188
S72	Estigmast-5-en-3-ol (beta-sitosterol)	48.806	0,00014

S73	24-propilidene-colest-5-en-3 β -ol	49.216	1,108
S74	acetato-colesta-5,24-dien-3 β -ol	49.371	0,214
S75	acetato-estigmasta-5,22(Z)-dien-3 β -ol	49.943	0,126
S76	Oleato de estigmast-5-en-3 β -ol	51.051	0,360
S77	Estigmastan-3,5-diene	51.203	2,279

ANEXO E: Abundância (%) das substâncias por classes nas amostras temporais de *D. anchorata*.

ACIDOS GRAXOS																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S2	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S5	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S6	0,54	0,18	0,29	0,12	0,05	0,30	0,00	0,14	0,21	0,00	0,17	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,30
S7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00
S8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S12	1,12	1,95	2,12	0,57	0,53	0,76	1,43	1,10	0,63	0,89	1,13	1,25	0,01	0,47	0,50	0,60	0,77	0,92	1,26	1,41
S13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
S16	0,35	0,40	0,42	0,13	0,11	0,18	0,36	0,23	0,19	0,19	0,23	0,23	0,00	0,15	0,14	0,15	0,19	0,20	0,24	0,00
S18	1,78	1,58	0,00	0,00	0,74	2,01	2,26	1,68	1,69	2,07	2,28	1,74	0,05	1,22	1,23	1,20	1,51	1,82	2,10	2,22
S20	5,66	6,77	6,44	4,05	3,82	3,79	6,33	4,58	3,10	5,47	4,80	4,93	0,11	3,20	2,93	3,60	4,69	3,41	5,43	5,15
S22	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S23	0,00	0,00	0,00	0,43	0,35	1,24	0,00	0,20	0,87	0,45	0,79	0,11	0,04	0,26	0,33	0,00	0,00	0,86	0,00	0,39
S24	0,00	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S25	0,48	0,73	0,81	0,37	0,31	0,39	0,40	0,38	0,34	0,33	0,36	0,50	0,01	0,36	0,43	0,34	0,00	0,34	0,34	0,57
S26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S27	0,00	0,00	0,00	0,17	0,18	0,39	0,31	0,25	0,31	0,26	0,28	0,30	0,01	0,19	0,19	0,21	0,00	0,28	0,31	0,42
S28	0,35	0,47	0,34	0,26	0,23	0,34	0,43	0,37	0,29	0,00	0,44	0,31	0,01	0,24	0,19	0,00	0,27	0,36	0,32	0,44
S29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00
S31	0,00	0,00	0,00	0,09	0,19	0,14	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00
S32	0,00	0,00	0,00	0,11	0,11	0,12	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00
S33	1,03	0,86	0,96	0,00	0,80	0,82	0,71	0,69	0,64	0,48	0,58	0,78	0,02	0,59	0,55	0,71	0,76	0,73	0,85	1,03
S34	2,07	0,39	0,51	2,06	1,58	3,80	1,51	1,67	3,03	2,34	3,64	1,45	0,18	2,28	2,53	1,91	1,86	3,29	2,87	2,57
S35	0,00	0,00	0,00	1,63	1,06	3,60	1,01	1,27	2,28	1,63	0,00	0,83	0,13	1,72	1,92	1,42	1,23	2,82	2,54	2,03
S36	0,29	0,00	0,00	0,26	0,22	0,41	0,00	0,21	0,39	0,00	0,05	0,00	0,00	0,30	0,47	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00
S37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S38	0,53	0,00	0,00	0,34	0,44	0,44	0,00	0,40	0,33	0,00	0,31	0,46	0,01	0,41	0,39	0,00	0,00	0,41	0,45	0,46
S39	2,14	1,51	1,61	1,41	1,28	1,26	1,19	1,08	1,00	0,66	0,80	1,14	0,03	1,15	1,29	1,32	1,32	1,30	1,24	1,54
S40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S41	1,22	0,62	0,39	0,00	0,18	0,49	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,02	3,61	0,60	0,41	0,00	0,40	0,00	0,00
S43	0,00	0,00	0,00	0,53	0,46	1,20	0,00	0,31	0,00	0,00	0,74	0,00	0,00	0,46	0,78	0,00	0,00	1,13	0,61	0,00

ÁCIDOS GRAXOS (continuação)																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S44	0,00	0,00	0,00	1,38	1,05	2,93	0,00	0,91	1,06	0,79	1,76	0,00	0,00	0,77	1,46	1,04	0,00	0,00	1,74	1,65
S45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	2,05	0,00	0,00	0,00	0,00	1,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,20	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,01	0,15	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S47	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	3,32	0,00	0,00	3,35	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	8,20	8,19	0,00	4,24	0,00	0,00
S49	0,69	0,21	0,46	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,01	0,50	0,48	0,25	0,00	0,41	0,00	0,00
S50	0,00	0,65	0,00	0,23	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S51	0,40	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,81	0,00	0,00	0,74	0,00	0,00
S53	0,37	1,36	1,07	2,93	2,36	2,21	1,59	0,17	1,95	1,05	0,00	1,73	0,07	1,51	1,87	1,58	2,01	2,10	2,31	2,45
S54	4,25	2,42	2,25	1,00	0,69	1,24	0,71	0,61	1,36	0,24	0,30	0,53	0,07	2,66	3,25	2,83	0,89	1,70	0,69	0,99
S55	0,00	0,92	1,15	2,31	1,92	2,18	1,16	1,37	1,92	0,76	1,67	1,34	0,08	1,80	2,49	1,76	1,77	2,37	2,23	2,03
S56	1,01	0,53	0,48	0,26	0,13	0,25	0,13	0,16	0,25	0,00	0,00	0,00	0,01	0,60	0,69	0,58	0,24	0,36	0,15	0,21
S58	19,04	11,96	11,85	23,50	17,11	17,07	19,80	14,15	13,29	14,95	15,69	13,76	0,62	13,16	19,17	16,12	22,89	16,83	19,45	17,49
S59	0,00	0,00	0,00	0,00	3,86	2,56	0,00	2,34	2,73	0,00	0,00	2,93	0,08	13,16	0,00	0,00	0,00	2,74	2,07	3,53
S61	1,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ÁCIDOS GRAXOS (continuação)																				
	48t0	48t1	48t2	48t3	48t4	50t0	50t2	50t3	50t4	66t0	66t1	66t2	66t3	66t4	67t0	67t2	67t3	67t4	69t0	69t4
S2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S6	0,21	0,39	0,00	0,14	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00	0,00
S7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,48	1,18	0,90	0,00	0,00
S11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,16	0,12	0,10	0,24	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
S12	0,85	2,21	0,78	0,84	2,22	0,79	1,22	19,99	1,36	0,35	0,79	0,67	0,54	0,42	1,26	0,73	0,75	0,83	0,98	0,91
S13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,51	0,39	0,48	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
S16	0,18	0,37	0,17	0,16	0,35	0,00	0,27	2,28	0,21	0,16	0,28	0,20	0,20	0,18	0,31	0,21	0,25	0,22	0,17	0,22
S18	1,70	3,16	1,58	1,65	2,73	1,93	2,19	0,00	1,95	1,33	1,92	1,22	0,00	1,12	1,86	0,00	1,16	1,26	1,70	1,73
S20	3,11	6,34	4,28	3,39	6,86	3,76	5,92	40,53	3,87	3,58	5,85	4,03	3,94	2,97	8,12	4,71	6,18	5,35	4,56	5,70
S22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S23	0,68	0,88	0,33	0,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
S24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S25	0,25	0,62	0,30	0,33	0,52	0,37	0,34	0,00	0,31	0,30	0,28	0,52	0,40	0,25	0,56	0,41	0,39	0,39	0,33	0,00

ACIDOS GRAXOS (continuação)																				
	48t0	48t1	48t2	48t3	48t4	50t0	50t2	50t3	50t4	66t0	66t1	66t2	66t3	66t4	67t0	67t2	67t3	67t4	69t0	69t4
S26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S27	0,39	0,60	0,27	0,23	0,54	0,25	0,29	0,00	0,30	0,22	0,22	0,27	0,22	0,19	0,71	0,66	0,00	0,71	0,18	0,00
S28	0,23	0,39	0,29	0,20	0,39	0,00	0,45	0,00	0,30	0,26	0,35	0,26	0,33	0,24	0,50	0,33	0,00	0,36	0,28	0,30
S29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,34
S30	0,34	0,89	0,00	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,33
S32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00
S33	0,63	1,00	0,58	0,60	0,87	0,77	0,91	0,00	0,95	0,85	0,78	0,51	0,96	0,75	1,15	1,04	0,90	1,21	0,87	0,94
S34	3,97	4,20	2,11	2,99	3,14	3,16	2,76	3,49	2,44	0,48	0,35	0,00	1,23	0,00	1,31	1,29	0,00	0,24	2,65	2,73
S35	2,80	3,08	1,42	2,99	2,14	3,14	2,56	0,00	2,44	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,14	0,86	0,00	0,00	1,61	1,80
S36	0,48	0,00	0,00	2,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37
S37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,30	0,00	0,00
S38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	0,38	0,57	0,54
S39	1,10	1,69	1,23	0,95	1,63	1,35	1,37	1,53	1,80	1,82	1,64	1,22	1,81	1,53	1,97	1,91	2,06	2,40	1,35	1,55
S40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S41	0,19	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,17	0,37	0,45	0,28	0,00	0,43	0,37	0,24	0,00	0,00
S43	1,22	0,96	0,48	0,85	0,00	0,00	0,78	0,00	1,03	0,33	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00	0,47
S44	1,87	2,02	1,06	1,75	0,00	0,00	1,96	0,00	2,04	0,42	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	0,49	1,24
S45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S47	4,60	2,19	3,53	0,00	5,61	5,26	4,19	0,00	4,18	5,02	3,65	0,00	4,06	2,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,26	0,38	0,35	0,16	0,00	0,43	0,33	0,40	0,00	0,00
S50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S52	0,00	1,00	0,00	0,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,71	0,49	0,00	0,81	0,00	0,00	1,14	0,00	0,99	0,00	0,00
S53	2,37	2,66	1,95	1,60	1,61	1,84	1,84	0,00	2,18	3,12	2,30	1,69	3,15	2,78	2,78	3,43	2,96	0,69	1,66	0,22
S54	1,66	0,70	1,27	0,27	1,58	1,73	1,61	0,00	1,64	2,45	1,37	1,90	2,04	1,03	1,03	1,67	1,21	1,00	0,36	0,45
S55	1,88	2,12	1,66	1,88	1,58	1,96	1,89	0,00	2,14	2,50	1,75	15,43	2,88	2,25	1,87	2,58	1,64	2,43	0,00	2,22
S56	0,30	0,00	0,24	0,00	0,26	0,32	0,30	0,00	0,64	0,56	0,27	0,40	0,45	0,19	0,17	0,32	0,20	0,00	0,00	0,00
S58	14,00	13,23	16,81	13,81	14,34	17,04	19,05	16,15	16,76	16,91	18,33	13,41	17,66	15,02	21,57	18,52	20,47	18,04	17,45	2,22
S59	3,14	3,56	1,73	2,77	3,27	0,00	3,46	0,00	0,21	4,69	3,94	3,06	0,00	15,02	2,81	4,83	2,44	4,51	3,28	4,16
S61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,37	1,14	0,87	2,35	0,00	0,63	0,00	0,77	0,00	0,00

ÁCIDOS GRAXOS (continuação)												
	83t0	83t1	83t2	83t3	83t4	89t3	89t4	93t0	93t1	93t2	93t3	93t4
S2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00
S5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S6	0,13	0,25	0,27	0,20	0,20	0,09	0,15	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00
S7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,97	0,00
S11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19
S12	0,64	1,10	1,11	0,55	1,15	0,72	1,05	0,58	0,69	0,68	0,39	1,06
S13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65
S16	0,18	0,23	0,26	0,13	0,22	0,14	0,19	0,17	0,20	0,19	0,15	0,27
S18	1,59	2,27	2,01	0,00	2,24	1,35	1,86	1,44	1,41	1,33	0,81	1,67
S20	3,23	4,64	4,45	3,53	0,02	3,54	4,26	3,35	4,16	4,27	2,92	5,02
S22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S23	1,22	1,29	0,87	0,00	1,10	0,30	0,44	0,71	0,68	0,54	0,00	0,00
S24	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52
S25	0,31	0,32	0,43	0,00	0,43	0,32	0,33	0,44	0,41	0,47	0,43	0,00
S26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S27	0,28	0,38	0,42	0,00	0,32	0,18	0,17	0,47	0,40	0,58	0,67	0,49
S28	0,28	0,31	0,48	0,00	0,28	0,22	0,25	0,31	0,27	0,33	0,21	0,31
S29	0,00	0,00	0,00	3,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S30	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S33	0,67	0,69	0,79	0,71	0,78	0,64	0,68	0,00	0,79	0,93	0,78	0,92
S34	4,34	4,35	3,38	2,14	3,55	2,19	2,78	2,92	2,74	2,33	0,56	1,77
S35	2,87	3,54	0,00	1,30	2,63	1,65	1,74	2,06	1,93	1,72	0,41	0,00
S36	0,47	0,00	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S38	0,41	0,00	0,00	0,00	0,49	0,40	0,00	0,00	0,40	0,00	0,41	0,52
S39	0,94	1,02	1,38	1,16	1,18	1,13	1,10	0,00	1,36	1,61	1,36	1,67
S40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,31	0,33	0,00	0,27
S43	1,05	1,14	1,03	0,47	0,92	0,66	0,78	0,97	0,78	0,65	0,42	0,40

ACIDOS GRAXOS (continuação)												
	83t0	83t1	83t2	83t3	83t4	89t3	89t4	93t0	93t1	93t2	93t3	93t4
S44	2,34	2,58	1,93	1,03	1,91	1,25	1,54	1,44	1,30	1,27	0,78	0,91
S45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S47	2,44	0,00	0,00	0,00	0,00	2,01	0,00	0,00	0,00	5,38	0,00	0,00
S49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,31	0,00	0,00	0,36
S50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00
S52	0,57	0,00	0,00	0,00	0,78	0,99	0,00	0,00	0,00	0,69	0,93	0,00
S53	1,99	1,91	2,31	2,23	1,80	1,69	1,89	2,50	2,31	2,74	2,97	2,56
S54	0,90	0,69	0,99	0,54	0,26	0,78	0,23	1,95	1,83	1,58	0,79	1,39
S55	2,06	1,95	2,04	1,68	2,10	1,74	2,01	2,06	1,89	2,10	0,00	1,92
S56	0,20	0,00	0,14	0,00	0,00	0,16	0,00	0,31	0,33	0,35	0,00	0,26
S58	14,26	17,10	16,02	19,12	2,87	13,04	14,50	17,04	18,45	17,18	19,06	16,70
S59	2,50	2,77	3,47	4,11	13,80	3,06	3,20	3,67	3,81	4,04	4,16	4,23
S61	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,38	0,00	0,00	0,00

ALCALOIDES																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,14	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
S14	0,00	0,00	0,44	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00
S15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
S17	0,10	0,15	0,00	0,00	0,06	0,21	0,27	0,19	0,00	0,19	0,21	0,29	0,00	0,16	0,00	0,22	0,19	0,09	0,56	0,68
S19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ALCALOIDES (continuação)																				
	48t0	48t1	48t2	48t3	48t4	50t0	50t2	50t3	50t4	66t0	66t1	66t2	66t3	66t4	67t0	67t2	67t3	67t4	69t0	69t4
S3	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	14,41	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S14	0,13	0,00	0,16	0,00	0,19	0,00	0,20	0,00	0,34	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00
S15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,09	0,11	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S17	0,54	0,00	0,27	0,13	0,84	0,00	0,34	1,29	0,75	0,18	0,20	0,00	0,11	0,14	0,45	0,25	0,15	0,24	0,05	0,00
S19	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ALCALOIDES (continuação)												
	83t0	83t1	83t2	83t3	83t4	89t3	89t4	93t0	93t1	93t2	93t3	93t4
S3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,00	0,29	0,00	0,00
S10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S14	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,27
S15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,17	0,00	0,00
S17	0,14	0,32	0,36	0,00	0,17	0,05	0,04	0,00	0,14	0,86	0,00	0,25
S19	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ALCOOIS																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,05	0,37	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00
S48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,73	0,00	0,24	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00

ALCOOIS (continuação)																				
	48t0	48t1	48t2	48t3	48t4	50t0	50t2	50t3	50t4	66t0	66t1	66t2	66t3	66t4	67t0	67t2	67t3	67t4	69t0	69t4
S1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ALCOOIS (continuação)												
	83t0	83t1	83t2	83t3	83t4	89t3	89t4	93t0	93t1	93t2	93t3	93t4
S1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ALDEÍDOS																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S4	0,13	0,15	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00
S21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ALDEÍDOS (continuação)																				
	48t0	48t1	48t2	48t3	48t4	50t0	50t2	50t3	50t4	66t0	66t1	66t2	66t3	66t4	67t0	67t2	67t3	67t4	69t0	69t4
S4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ALDEÍDOS (continuação)																				
	83t0	83t1	83t2	83t3	83t4	89t3	89t4	93t0	93t1	93t2	93t3	93t4								
S4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00								
S9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00								
S21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00								

ESTERÓIS																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S57	0,00	0,47	0,68	0,00	3,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00	0,66	0,00	0,76	0,00	0,00	0,00	0,00
S60	0,00	0,00	1,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	1,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00
S62	2,59	0,00	3,87	2,32	0,00	1,21	1,16	0,00	2,70	4,20	1,55	6,49	0,05	5,24	0,00	5,96	6,34	5,40	6,51	6,43
S63	0,00	3,30	0,00	2,32	2,17	1,21	1,02	2,68	2,70	1,54	1,55	3,22	0,06	2,44	0,00	3,45	3,43	0,00	2,95	3,05
S64	0,00	6,22	0,00	0,00	5,25	0,00	0,00	6,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S65	20,14	27,93	31,04	29,24	22,21	20,35	30,61	23,67	18,35	28,57	27,31	25,63	0,79	15,36	14,68	23,39	29,89	17,53	23,83	24,33
S66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S67	2,97	4,42	5,59	5,46	2,84	2,88	3,56	3,77	4,38	2,55	4,08	3,73	0,12	2,38	2,21	3,06	3,49	2,48	3,21	3,18
S68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S69	3,87	5,26	6,43	3,15	3,01	6,06	4,38	4,74	3,80	3,24	4,67	4,35	0,14	2,98	2,87	3,56	4,52	3,56	3,83	3,99

ESTEROIS (continuação)																				
	19t2	19t3	19t4	33t0	33t4	35t0	35t3	35t4	36t0	36t1	36t3	36t4	45t0	45t2	45t3	45t4	46t0	46t2	46t3	46t4
S70	6,69	2,85	1,75	0,02	8,14	1,68	9,05	10,96	8,07	6,67	11,14	9,56	0,34	3,61	6,18	3,60	0,02	7,60	0,26	0,57
S71	8,80	11,96	14,79	12,19	9,83	7,71	9,81	9,57	8,26	11,06	11,16	10,22	0,30	7,19	5,74	7,79	10,69	7,80	9,64	10,24
S72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S73	0,13	0,00	1,07	0,77	0,42	0,68	0,46	0,13	0,76	0,46	0,56	0,23	0,30	0,49	0,00	0,00	0,37	0,98	0,56	0,66
S74	3,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00	1,09	0,00	0,00	0,00	0,06	1,97	3,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S75	0,00	1,14	0,00	0,00	0,00	0,44	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	2,42	1,09	0,00	0,00	0,00	0,00
S76	0,14	2,47	0,60	0,38	0,00	0,32	0,00	0,00	1,62	0,00	0,00	0,00	0,04	3,73	0,27	0,17	0,67	0,06	0,00	0,00
S77	6,03	0,00	0,00	0,00	0,00	1,26	0,00	0,00	2,20	0,00	0,00	0,00	95,92	0,27	6,98	2,75	0,00	2,85	0,00	0,00
S57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,62	3,25	0,00	0,00
S60	1,93	0,00	0,69	1,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,72	0,00
S62	0,00	6,20	5,92	2,40	0,00	5,92	0,00	0,00	5,53	4,57	0,00	5,50	6,51	5,54	1,15	4,97	1,68	5,14	7,86	0,00
S63	2,13	2,81	2,15	0,00	2,18	2,13	3,26	0,00	2,30	1,99	2,92	0,00	2,43	2,44	2,17	2,34	1,68	2,40	2,84	2,82
S64	4,42	0,00	0,00	0,00	6,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,42
S65	19,15	11,29	21,94	19,52	22,60	22,18	25,03	0,32	18,61	19,79	25,33	18,96	20,10	18,76	30,45	22,40	30,61	23,79	26,43	27,80
S66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S67	3,53	3,38	3,50	3,68	3,80	2,82	3,35	0,00	2,52	2,90	3,53	3,15	3,39	3,10	3,65	3,98	3,68	3,68	4,28	4,11
S68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00
S69	3,46	3,93	3,75	4,67	4,95	3,35	0,00	0,00	3,39	3,33	3,81	3,36	3,97	3,50	3,35	4,19	3,89	4,05	4,28	4,39
S70	8,01	7,94	10,12	8,57	0,00	8,72	1,38	0,00	7,67	7,13	0,00	7,34	8,10	7,16	0,20	0,52	0,04	0,67	0,34	10,00
S71	7,51	8,23	8,45	9,18	8,15	8,89	10,50	0,00	8,09	8,24	10,40	6,98	9,36	8,39	10,44	11,01	14,03	12,32	11,64	12,26
S72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S73	0,28	1,96	0,11	9,18	0,00	0,77	0,97	0,00	0,84	0,48	0,00	6,98	0,73	0,67	0,00	0,88	0,60	0,83	0,93	0,61
S74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S76	0,70	0,00	0,34	0,00	0,00	1,43	1,63	0,00	1,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ESTEROIS (continuação)												
	83t0	83t1	83t2	83t3	83t4	89t3	89t4	93t0	93t1	93t2	93t3	93t4
S57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40
S60	1,77	1,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,26	0,00	0,00	0,00
S62	4,81	5,69	6,22	0,00	5,81	5,09	6,69	6,04	5,78	5,93	7,50	5,86
S63	2,56	5,69	0,00	0,00	0,00	17,52	2,49	3,04	2,12	2,59	1,76	1,13
S64	0,00	0,00	0,00	5,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S65	19,69	21,49	20,56	23,64	19,07	18,12	23,27	19,06	20,81	19,85	23,40	23,08
S66	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S67	3,65	3,47	3,76	3,78	3,87	2,62	3,59	0,00	2,57	2,69	3,56	3,30
S68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S69	3,59	3,60	4,75	3,72	4,01	3,06	4,48	3,30	2,84	0,00	3,75	3,41
S70	8,43	0,15	9,68	8,57	8,25	6,72	8,55	7,60	7,47	7,36	8,72	8,84
S71	8,37	8,53	9,80	11,05	9,59	7,78	10,57	7,98	6,96	8,26	10,62	9,43
S72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S73	0,42	0,46	0,76	0,70	9,59	0,15	0,96	7,60	0,00	0,38	0,75	0,00
S74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S76	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,68	1,49	0,00	0,00	0,00
S77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ANEXO F: Índice de Variação Fisiológica entre alcaloides: ácidos graxos e alcaloides: esteróis nas amostras temporais de *D. anchorata*.

Indivíduo	Tempo	Alcaloides: Âc. Graxos	Alcaloides: Esteróis
19	T2	0,002	0,002
19	T3	0,005	0,002
19	T4	0,014	0,007
33	T0	0,000	0,000
33	T4	0,001	0,001
35	T0	0,010	0,012
35	T3	0,007	0,004
35	T4	0,005	0,003
36	T0	0,003	0,003
36	T1	0,005	0,003
36	T3	0,014	0,008
36	T4	0,016	0,009
45	T0	0,005	0,000
45	T2	0,003	0,003
45	T3	0,000	0,000
45	T4	0,005	0,004
46	T0	0,005	0,003
46	T2	0,011	0,011
46	T3	0,012	0,011
46	T4	0,014	0,013
48	T0	0,015	0,014
48	T1	0,000	0,000
48	T2	0,018	0,013
48	T3	0,003	0,002

Indivíduo	Tempo	Alcaloides: Âc. Graxos	Alcaloides: Esteróis
48	T4	0,020	0,021
50	T0	0,003	0,002
50	T2	0,010	0,012
50	T3	0,187	49,467
50	T4	0,031	0,030
66	T0	0,011	0,011
66	T1	0,004	0,004
66	T2	0,000	0,000
66	T3	0,008	0,006
66	T4	0,005	0,005
67	T0	0,009	0,009
67	T2	0,005	0,005
67	T3	0,010	0,008
67	T4	0,005	0,004
69	T0	0,001	0,001
69	T4	0,000	0,000
83	T0	0,003	0,003
83	T1	0,012	0,011
83	T2	0,008	0,006
83	T3	0,000	0,000
83	T4	0,004	0,003
89	T3	0,001	0,001
89	T4	0,001	0,001
93	T0	0,010	0,008

Indivíduo	Tempo	Alcaloides: Âc. Graxos	Alcaloides: Esteróis
93	T1	0,008	0,008
93	T2	0,025	0,028
93	T3	0,000	0,000
93	T4	0,012	0,009

Legenda: T0 – início do experimento, T1- 52 dias, T2- 94 dias, T3- 139 dias e T4 -187 dias