



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

ANDRESSA STEPHANY COELHO DE MORAIS

PROSPECÇÃO ANTI-INCRUSTANTE DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE
***Laurencia dendroidea* J. AGARDH 1852**
(Rhodophyta, Rhodomelaceae)

ARRAIAL DO CABO/RJ
2023

ANDRESSA STEPHANY COÊLHO DE MORAIS

**PROSPECÇÃO ANTI-INCRUSTANTE DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE
Laurencia dendroidea J. AGARDH 1852
(Rhodophyta, Rhodomelaceae)**

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

Orientador: Dr^o. Renato Crespo Pereira
Coorientadora: Dr^a. Angélica Ribeiro Soares

**ARRAIAL DO CABO/RJ
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

M828p MORAIS, Andressa Stephany Coêlho de.

Prospecção anti-incrustante de extratos orgânicos de *Laurencia dendroidea* J. Agardh 1852 (Rhodophyta, Rhodomelaceae) / Andressa Stephany Coêlho de Moraes. Arraial do Cabo, RJ: Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira, 2023.

65 f.: il.; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Marinha) - Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e Universidade Federal Fluminense - IEAPM/UFF, Programa Associado de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha, Arraial do Cabo - RJ, 2023.

Orientador: Renato Crespo Pereira.

Coorientadora: Angélica Ribeiro Soares.

1. Anti-incrustante. 2. Biotecnologia. 3. *Laurencia dendroidea*. 4. *Perna perna*. 5. Produtos naturais marinhos.
I. PEREIRA, Renato Crespo. II. SOARES, Angélica Ribeiro.
III. Título.

CDD 660.6

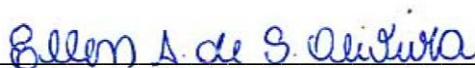
Elaborada pela Biblioteca do IEAPM

ANDRESSA STEPHANY COELHO DE MORAIS


**PROSPECÇÃO ANTI-INCRUSTANTE DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE
Laurencia dendroidea J. AGARDH 1852
(Rhodophyta, Rhodomelaceae)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e à Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE em BIOTECNOLOGIA MARINHA.

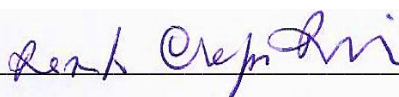
COMISSÃO JULGADORA:



Dr^a. Ellen Aparecida de Souza Oliveira
Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira - IEAPM



Dr^o. Felipe de Vargas Ribeiro
Universidade Federal Fluminense - UFF



Dr^o. Renato Crespo Pereira
Universidade Federal Fluminense - UFF
Professor Orientador – Presidente da Banca Examinadora

Arraial do Cabo, 28 de abril de 2023.

DEDICATÓRIA

A Ele, que faz novas todas as coisas, dedico minha caminhada de vida. Dedico também todo o sucesso àquilo que de mais precioso eu tenho, minha família sensacional que apoia todas as minhas empreitadas.

Em especial, dedico a meus pais Marta e Fabiano, os revisores mais exigentes que alguém poderia ter, que sempre viram e fizeram com que eu expressasse o melhor de mim. Sinto imenso orgulho de ser sua filha. A meus avós Sátiro e Francisca (*in memoriam*), meu avô Miguel e, principalmente, a vovó Marina, minha amiga, meu xodó, que se faz presente mesmo a quilômetros de distância.

Meus amados Irmãos Matheus e Lucas, que me inspiram a ser a melhor irmã que eu puder e, mesmo em momentos de atribulação, me ajudam a manter viva minha criança interior. Meus queridos tios Edvirgens, Fabricia, Michael e Aline, que, além do amor e suporte, me estimularam à conclusão deste trabalho com a pergunta mais simples e ao mesmo tempo complexa: “quando pegará seu grau de Mestre?”. A Raphael Mello, pelo bem querer e companheirismo. Aos amigos de vida, pelo apoio incondicional, mesmo sem muitas vezes entenderem os porquês.

A vocês que estiveram juntos a mim, na torcida pelo sucesso, mesmo em momentos de angústia, nada mais justo que dividir os frutos da sensação de dever cumprido, de algo que me propus a realizar, mas que só foi possível com o suporte de cada um à sua maneira.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A autora agradece ao órgão de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante o curso de Mestrado. Aos familiares, consorte e amigos, pelo incentivo e compreensão pelos momentos de convivência subtraídos em prol da Ciência e Inovação.

Às orientações, ensinamentos, apoio e, sobretudo, confiança do professor Renato Crespo Pereira. À disponibilização de material e coorientação da professora Angélica Ribeiro Soares.

Aos professores, colegas e corpo técnico do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Marinha do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM e Universidade Federal Fluminense - UFF, pelos conhecimentos compartilhados.

Em especial, à professora Giselle Pinto de Faria Lopes, por suas instruções, suporte e comprometimento nas etapas cruciais de finalização deste trabalho, juntamente às(os) amigas(os) Jade Del Nero, Jane Nascimento e João Laudaes, pelo auxílio e companheirismo durante todo o curso e na execução dos ensaios. Assim como às instituições IEAPM e UFF, que foram imprescindíveis para o desenvolvimento desta Dissertação.

***“Tudo o que nunca foi achado ficará
também conhecido se procurado com
curiosidade...”***

(Tom Zé / Elifas Andreato)

RESUMO

Laurencia dendroidea corresponde a uma das espécies de macroalgas vermelhas, encontradas na costa brasileira, amplamente estudadas devido à sua produção de metabólitos secundários (MS) bioativos. Os MS mais investigados incluem sesquiterpenos, identificados e caracterizados em vários estudos, por se comportarem como mediadores químicos nas interações biológicas entre espécies. Estes MS têm mostrado atividade anti-incrustante contra uma ampla gama de organismos, muito embora os mecanismos subjacentes ainda não sejam totalmente compreendidos. Apesar do processo de bioincrustação ocorrer de forma natural no meio marinho, representa transtornos e danos econômicos quando relacionado a estruturas artificiais submersas, e seu controle por produtos químicos pode levar à contaminação da água e ter efeitos nocivos em organismos não-alvo. Neste estudo, foi avaliada, em laboratório, a atividade anti-incrustante de extratos orgânicos, à concentração natural, da macroalga vermelha *L. dendroidea*, coletada em 5 locais da costa sudeste brasileira, sendo estes: Armação dos Búzios (AZED) – RJ, Angra dos Reis (BISC) – RJ, Serra (MANG) – ES, Arraial do Cabo (FORN) – RJ e Paraty (VERM) – RJ. Dois controles foram utilizados: um positivo, com sulfato de cobre (CuSO_4), e um negativo, apenas com diclorometano (DCM). A atividade anti-incrustante foi avaliada usando como organismo modelo, para interação ecológica entre espécies, o mexilhão *Perna perna*. Os resultados mostraram que todos os extratos de *L. dendroidea* apresentaram atividade anti-incrustante significativa em relação ao controle negativo. Entretanto, apenas os extratos correspondentes a AZED, BISC e VERM apresentaram diferença significativa em relação ao CuSO_4 . Não houve diferença significativa entre os extratos orgânicos em relação à atividade anti-incrustante, quando comparados entre si, contudo, as amostras com melhor prospecção em inibir o processo de bioincrustação corresponderam aos extratos de AZED e BISC, que apresentaram 0% de fixação de filamentos de biscoitos por parte dos mexilhões. No entanto, o extrato BISC de *L. dendroidea* se mostrou mais promissor, por ter elevado potencial anti-incrustante e menor toxicidade para os mexilhões, causando mortalidade de 27% dos indivíduos a ele submetidos. Apesar de não ter sido detectada diferença significativa entre os extratos testados, em relação aos locais de coleta da macroalga, os resultados sugerem *L. dendroidea* como fonte promissora de MS anti-incrustantes com aplicações práticas na prevenção da incrustação em superfícies artificiais submersas.

PALAVRAS-CHAVE: Anti-incrustante. Biotecnologia. *Laurencia dendroidea*. *Perna perna*. Produtos naturais marinhos.

ABSTRACT

Laurencia dendroidea corresponds to one of the red macroalgae species found along the Brazilian coast, widely studied due to its production of bioactive secondary metabolites (SM). The most investigated SM include sesquiterpenes, identified and characterized in several studies for their role as chemical mediators in biological interactions between species. These SM have shown antifouling activity against a wide range of organisms, although the underlying mechanisms are not fully understood. Notwithstanding biofouling process occurs naturally in marine environments, it represents inconvenience and economic damages when associated with submerged artificial structures, and its control through chemical products can lead to water contamination and harmful effects on non-target organisms. In this study, the antifouling activity of organic extracts, at natural concentration, of the red macroalgae *L. dendroidea*, collected from five locations along the southeastern Brazilian coast, were evaluated, namely: Armação dos Búzios (AZED) – RJ, Angra dos Reis (BISC) – RJ, Serra (MANG) – ES, Arraial do Cabo (FORN) – RJ and Paraty (VERM) – RJ. Two controls were used: a positive one, with copper sulfate (CuSO₄), and a negative one, with dichloromethane only (DCM). The antifouling activity was evaluated using the mussel *Perna perna* as model organism for ecological interaction between species. The results showed that all *L. dendroidea* extracts exhibited significant antifouling activity compared to the negative control. However, the extracts corresponding to AZED, BISC and VERM showed significant difference when compared to the CuSO₄. There was no significant difference between the organic extracts in terms of antifouling activity, when compared to each other, nonetheless, the samples with the most promising prospect in inhibiting the biofouling process corresponded to the AZED and BISC extracts, which showed 0% of byssus threads attachment by the mussels. Among these, the BISC *L. dendroidea* extract was more promising, as it has showed higher antifouling potential and less toxicity to mussels, causing mortality in 27% of the exposed individuals. Although no significant difference was detected among the tested extracts regarding the macroalgae collection sites, the results suggest *L. dendroidea* as a promising source of antifouling SM with practical applications in the fouling prevention in submerged artificial structures.

KEYWORDS: Antifouling. Biotechnology. *Laurencia dendroidea*. Marine natural products. *Perna perna*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Marcos da Biotecnologia.	14
Figura 2 - Navio deslastrando água contendo organismos em vários ciclos de vida, enquanto é carregado com mercadorias.	20
Figura 3 - Representação esquemática do processo de bioincrustação.	21
Figura 4 - Zonação em costões rochosos.	26
Figura 5 – Aspecto geral de <i>Laurencia dendroidea</i> .	27
Figura 6 - Esboço dos 171 registros de ocorrência de <i>L. dendroidea</i> pelo Brasil, de acordo com o SiBBr.	28
Figura 7 - <i>Corps en cerise</i> (CC) em <i>Laurencia dendroidea</i> . (a) Corte longitudinal de ramo mostrando um CC por tricoblasto e até três CC em células corticais. (b) Células corticais em vista superior mostrando um (dois-três) CC por célula.	29
Figura 8 - Estrutura química do elatol, metabólito secundário isolado a partir da macroalga <i>Laurencia dendroidea</i> .	30
Figura 9 - Substâncias caracterizadas a partir da análise espectroscópica dos extratos orgânicos brutos de <i>L. dendroidea</i> e substâncias isoladas	35
Figura 10 - Local de coleta dos indivíduos incrustantes, no banco natural do mexilhão <i>Perna perna</i> , pelo costão rochoso da Praia Grande, Arraial do Cabo – RJ (22°97'67.22" S, 42°03'50.14" O).	37
Figura 11 - (a) Mexilhões <i>Perna perna</i> expondo pé muscular para exploração do substrato. (b) Mensuração de concha de indivíduo desagregado e limpo.	38
Figura 12 - Ilustração esquemática do ensaio <i>L. dendroidea</i> vs. <i>P. perna</i> , com distribuição dos mexilhões entre réplicas controle e extratos orgânicos brutos à concentração natural de <i>L. dendroidea</i> de localidades distintas.	39
Figura 13 - (a) <i>Perna perna</i> e seus filamentos de bissos fixados em concha de outro indivíduo. (b) Presença de gametas (coloração alaranjada) observada a olho nu.	41
Figura 14 - Critérios para avaliação visual da mortalidade dos mexilhões. (a) Réplica apresentando indivíduos com perda tecidual. (b) Indivíduo da esquerda com valva aberta em demasia, enquanto indivíduo da direita ainda viável. (c) Réplica com indivíduos viáveis.	41
Figura 15 - Filamentos de bissos fixados por réplica (medianas e IQR). N = número de réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn <i>a posteriori</i> para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$).	43

Figura 16 - Filamentos de bissos fixados [%] ao final de 24h e identificação de diferença significativa entre mexilhões *P. perna* submetidos aos extratos orgânicos brutos de *L. dendroidea* em comparação aos controles negativo e positivo. Contabilizados filamentos de bissos fixos em disco, superfície das placas e conchas de outros indivíduos. N = número de réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$). 46

Figura 17 - Filamentos de bissos fixados [%] em papel filtro, placa e outros indivíduos após 24h de contato com tratamentos. N = número de réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$). 47

Figura 18 - Registro da liberação de gametas por tratamento, de mexilhões *P. perna*, entre 0h e 48h, com ocorrência expressa em número de réplicas, em um total de N = 10 réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$). 48

Figura 19 - Mortalidade de indivíduos *P. perna* [%] (média \pm SD), após transcorridas 48h de ensaio, em que houve diferença significativa apenas entre os tratamentos BISC e CuSO_4 , sendo 3 indivíduos por réplica e N = número de réplicas por tratamento. *One way ANOVA* (Teste de Tukey *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$). 49

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Locais de coleta das amostras de *L. dendroidea*. Adaptado de Machado, 2014. 34
- Tabela 2** - Rendimento de extrato orgânico bruto em relação ao peso seco de *L. dendroidea* coletada em localidades distintas. Adaptado de Machado, 2014. 35
- Tabela 3** - Teor relativo de sesquiterpeno expresso como área percentual do pico da substância obtido por análise GC/MS de extratos de *L. dendroidea* de localidades distintas. Adaptado de Machado et al., 2016. 36
- Tabela 4** - Concentrações naturais dos extratos orgânicos brutos referentes a cada amostra de *L. dendroidea* de localidades distintas, calculadas com base no rendimento de extração e relacionadas ao peso seco dos discos de papel filtro, por mL de DCM. 40
- Tabela 5** - Detecção, após 24h, de diferença significativa entre extratos orgânicos brutos de *L. dendroidea* de localidades distintas, em comparação aos controles negativo e positivo, mediante teste de Kruskal Wallis (teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações) quando $p < 0,05$. 46
- Tabela 6** - Local de fixação dos filamentos de bissos e porcentagem relativa ao total de bissos fixados em 24h de ensaio. 48
- Tabela 7** - Comparativo entre dados e resultados obtidos a partir da investigação do extrato orgânico de *L. dendroidea* coletada em 5 localidades da costa sudeste brasileira. 50

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - percentual

α – nível de significância estatística

μM – micro molar

a.C. – antes de Cristo

ANTAQ - Agência Nacional de Transportes Aquaviários

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AZED – Praia Azeda

BISC – Enseada do Biscaia

cm - centímetro

CC – *corps en cerise*

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

CTFB - Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil

CTR - Controle

CuSO₄ – Sulfato Cúprico

DCM – Diclorometano (CH₂Cl₂)

FORN – Praia do Forno

g - grama

h - hora

GC/MS - *Gas chromatography – mass spectrometry*

HIV – *Human Immunodeficiency virus*

IMO - Organização Marítima Internacional; do inglês *International Marine Organization*

IQR – Intervalo Interquartil; do inglês *Interquartile Range*

L - litro

MANG – Praia de Manguinhos

mg - miligrama

mL - mililitro

MS - metabólitos secundários

ns – não significativa

ONU – Organização Nacional das Nações Unidas

p - p-valor

RS – Rio Grande do Sul

SD – desvio padrão; do inglês *Standard Deviation*

SiBBr - Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira

SP – São Paulo

TBT - Tributilestanho

UFF – Universidade Federal Fluminense

VERM – Praia Vermelha

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 BIOTECNOLOGIA AZUL E SUSTENTABILIDADE NA OBTENÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS MARINHOS BIOATIVOS	16
2.1 INTERAÇÕES ECOLÓGICAS E PRODUTOS NATURAIS MARINHOS	17
2.2 BIOINVASÃO, BIOINCRUSTAÇÃO E SEU CONTROLE ATRAVÉS DE PRODUTOS NATURAIS DE ORIGEM MARINHA	19
2.3 MACROALGAS COMO FONTE DE METABÓLITOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO.....	24
2.4 <i>Laurencia dendroidea</i> J. AGARDH (RHODOPHYTA, RHODOMELACEAE).....	26
3 JUSTIFICATIVA	31
4 OBJETIVOS	32
4.1 OBJETIVO GERAL	32
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
5 HIPÓTESE	33
6 MATERIAL E MÉTODOS	34
6.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS ALGÁCEAS.....	34
6.2 COLETA DOS ORGANISMOS MARINHOS INCRUSTANTES	36
6.3 MONTAGEM DO ENSAIO <i>L. dendroidea</i> x <i>P.perna</i>	38
6.3.1 Concentração Natural dos extratos orgânicos brutos	39
6.3.2 Atividade anti-incrustante e Mortalidade	40
6.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	41
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
7.1 PROSPECÇÃO ANTI-INCRUSTANTE	43
7.2 MORTALIDADE	49
8 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Antes mesmo que o homem nomeasse as ciências, já lidava com produtos naturais e biotecnologia como, por exemplo, no combate a doenças diversas por ingestão de folhas e ervas, ou mesmo na produção de pães e vinhos através das propriedades fermentativas das leveduras; este último exemplo torna os fungos um dos precursores da aplicação biotecnológica de recursos naturais (BRANDELLI, 2017).

Buscando evidências históricas das primeiras utilizações de produtos naturais pelo homem, tem-se descritivos sobre plantas medicinais remontando às sagradas escrituras e ao papiro de Ebers, que data de aproximadamente 1550 a.C. Tal papiro, encontrado nas proximidades da casa mortuária de Ramsés II, enumera por volta de 100 doenças e descreve diversas drogas de natureza animal e vegetal. Foi descoberto e publicado por Georg Ebers, sendo traduzido, pela primeira vez, em 1890, por H. Joachin (MONTEIRO & BRANDELLI, 2017; VILELA, 1977).

Historicamente, os produtos naturais são a fonte de muitos medicamentos e ainda hoje representam um importante grupo para a identificação de novas estruturas químicas. A maioria dos fármacos¹ em uso clínico é de origem natural ou foi desenvolvida a partir de produtos naturais (ATANASOV et al., 2015; BERLINCK et al., 2017; DIAS et al., 2012; NEWMAN & CRAGG, 2020).

A descoberta de substâncias alucinógenas pode ser considerada outro marco notável do uso de produtos naturais com impacto acentuado na humanidade, e que, de certa maneira, modificou o comportamento do homem moderno (DOS SANTOS, 2021).

Pós à base de folhas e cascas de árvores, assim como bebidas alucinógenas, eram amplamente utilizados por povos antigos em suas práticas religiosas e de ocultismo. “Na Grécia antiga, extratos vegetais eram utilizados em execuções, como no caso de Sócrates, que morreu após a ingestão de uma bebida à base de cicuta, que continha coniina” (WEISSMANN, 1991 apud VIEGAS JR, 2006, p.327).

Entre os acasos extraordinários da ciência, têm-se que, em 1928, Alexander Fleming detectou a inibição do crescimento de placas de cultura semeadas com colônias de estafilococos contaminadas com fungos posteriormente identificados

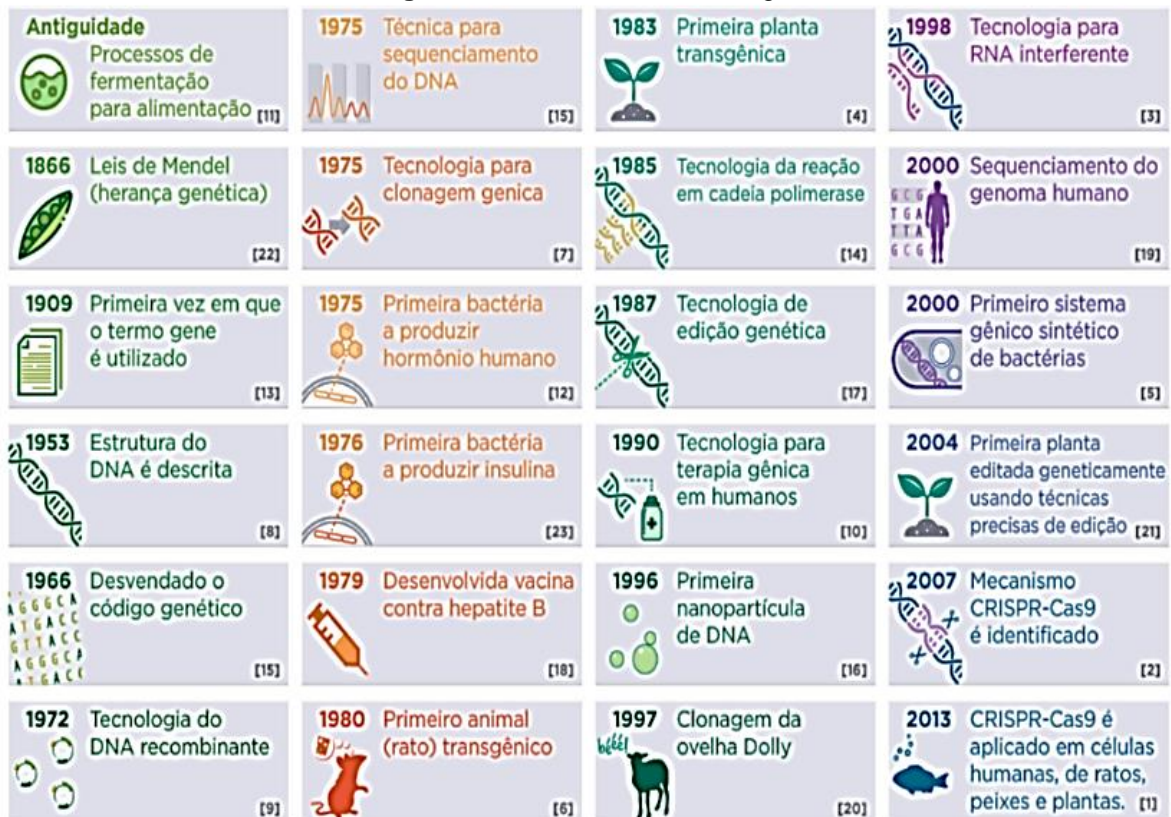
¹ Insumo farmacêutico ativo: também denominado fármaco, ou simplesmente princípio ativo, é o componente farmacologicamente ativo destinado ao emprego em medicamento (ANVISA, 2020, s.p.)

como pertencentes ao gênero *Penicillium*. Tal acaso o levou futuramente à descoberta da penicilina, que representou significativo avanço na medicina (BARREIRO & FRAGA, 2001, apud VIEGAS JR, 2006, p.329).

De origem grega, a palavra biotecnologia é composta pelos radicais “*bio*” significando *vida*, “*tecno*”, remetendo a técnica e “*logos*”, que quer dizer “*conhecimento*”. Em se tratando desta ciência, pode-se entender sua abordagem por uma de suas principais definições: “Qualquer aplicação tecnológica que utilize sistemas biológicos, organismos vivos, ou seus derivados, para fabricar ou modificar produtos ou processos para utilização específica” (ONU, Convenção de Biodiversidade 1992, Art. 2).

Sendo assim, de forma prática, podemos entender a biotecnologia como uma ciência que, a partir de organismos vivos e/ou seus procedentes, busca criar produtos para melhorar a forma como vivemos, lançando mão de conhecimentos acadêmicos, experimentação e inovação constante. Na figura 1 pode-se observar alguns marcos biotecnológicos durante o desenvolvimento da humanidade.

Figura 1 - Marcos da Biotecnologia.



FONTE: CROPLIFE BRASIL, 2020.

A biotecnologia marinha é uma das áreas de pesquisas da biotecnologia, em si, que tem crescido consideravelmente nos últimos anos, impulsionada pela grande diversidade de organismos presentes nos oceanos e pelos potenciais benefícios que estes podem oferecer à indústria, à saúde e ao meio ambiente. Entre os organismos de interesse para a biotecnologia marinha, destacam-se as macroalgas, que são consideradas fontes ricas em produtos naturais² com propriedades únicas e grande potencial biotecnológico (PEREIRA, 2020).

No que tange a biodiversidade dos oceanos, a compreensão das interações ecológicas no meio marinho, e exploração de metabólitos bioativos provenientes dele, representam oportunidade promissora para o desenvolvimento de produtos inovadores e sustentáveis. Ao se explorar tais substâncias, procedimentos que considerem as concentrações naturais de metabólitos permitem abordagens mais realistas na pesquisas de produtos naturais de origem marinha (DOS SANTOS, 2023).

Com ela, é possível avaliar a proporção de substâncias bioativas disponível para interação ambiental, uma vez que a concentração natural dos compostos extraídos de organismos marinhos tende a refletir condições reais encontradas em seus *habitats*, fator importante para a análise de viabilidade desses produtos em aplicações biotecnológicas (CAIN, 2017; PEREIRA, 2009).

A pesquisa científica nessa área desempenha papel crucial na descoberta de novas substâncias, na compreensão de seus mecanismos de ação e no desenvolvimento de processos biotecnológicos que possam contribuir para a preservação dos ecossistemas marinhos e avanço de várias indústrias, incluindo a naval (VEIGA, 2019).

² Também denominados metabólitos secundários, metabólitos especiais ou metabólitos complementares (BERNARDI et al., 2020; PEREIRA, 2009).

2 BIOTECNOLOGIA AZUL E SUSTENTABILIDADE NA OBTENÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS MARINHOS BIOATIVOS

Biotecnologia Azul é o termo utilizado para designar o segmento da biotecnologia relacionado ao estudo, utilização e manipulação de sistemas biológicos do meio marinho, em prol do desenvolvimento de produtos e processos tecnológicos (KAFARSKI, 2012; PINTO et al., 2022).

O misterioso ambiente marinho e os produtos naturais provenientes desse meio têm despertado interesse no mundo científico nas últimas décadas, devido ao potencial biotecnológico de tais produtos, seja para aplicações farmacológicas, agroindustriais, navais ou mesmo na ecologia (CARROLL, 2022; GARRIDO et al., 2021; LEAL et al., 2020; MARQUES, 2021; PEREIRA et al., 2023).

Colonizado por variados invertebrados, macroalgas, entre outros seres, o meio marinho torna-se um sistema altamente competitivo, uma vez que tais organismos disputam nutrientes, luz e por espaço na forma de substrato sólido (BATISTA, 2020; GERLING, 2016).

Além do supracitado, há também a necessidade de defesa contra microorganismos patogênicos e predadores (DEVKAR et al., 2022; NEWMAN & CRAGG, 2020; PEREIRA et al., 2003), motivo pelo qual é provável que algumas espécies marinhas devam biossintetizar, ou incorporar na dieta, suas próprias armas químicas de defesa, que poderão facilitar sua sobrevivência em ecossistemas tão competitivos.

Ecossistemas marinhos são ricos em biodiversidade e abrigam ampla variedade de espécies, das quais muitas estão envolvidas em interações ecológicas complexas. Essas interações desempenham papel fundamental na manutenção do equilíbrio ecológico dos oceanos e na promoção da saúde dos ecossistemas marinhos (CASTRO & HUBER, 2012).

Tem-se na ecologia marinha, campo de estudo que investiga as interações entre organismos marinhos e seu ambiente. A riqueza de diversidade biológica presente nos oceanos oferece vasto reservatório de organismos que produzem ampla gama de substâncias naturais de potencial biotecnológico (CAIN, 2017; IANORA, 2011).

A partir do uso dos recursos do mar, a biotecnologia marinha, ou biotecnologia azul, envolve técnicas e procedimentos que possibilitam ampliar o conhecimento de

componentes ambientais, genéticos, bioquímicos e nutricionais como fonte principal para o desenvolvimento de processos e produtos inovadores. “A área de biotecnologia marinha apresenta uma alta expectativa de geração de diversos outros produtos, no curto, médio e longo prazos” (VEIGA, 2019, p.22).

Há vários exemplos de sucesso que são amplamente conhecidos, desde o Prialt, um analgésico para tratamento de dores crônicas, desenvolvido a partir de uma toxina produzida por um búzio marinho; o AZT, a primeira droga licenciada para o tratamento do VIH-SIDA, isolada a partir de uma esponja do Mar das Caraíbas, ou, com a mesma origem, o Acyclovir, que desempenha um papel fundamental no tratamento das infecções por herpes (LUÍS; FERREIRA; FREDERICO & AZEVED, 2014, p.3).

Sendo assim, têm-se na biodiversidade marinha grande fonte de metabólitos com potencial para desenvolvimento e inovação de bioprodutos (DE MOURA, 2023), cujos usos poderão ser aplicados em campos que vão desde a produção primária de insumos à indústria e saúde. No entanto, todo esse estudo e utilização dos produtos naturais bioativos deve seguir os preceitos da sustentabilidade, ou seja, processos ecologicamente corretos, economicamente viáveis e socialmente justos.

2.1 INTERAÇÕES ECOLÓGICAS E PRODUTOS NATURAIS MARINHOS

No meio marinho, as interações ecológicas desempenham papel fundamental na regulação da estrutura e função dos ecossistemas. Por exemplo, a predação pode exercer pressão seletiva sobre espécies, influenciando a composição e abundância de organismos. A predação por herbívoros controla o crescimento excessivo de algas, mantendo o equilíbrio ecológico nos recifes de coral (CASTRO e HUBER, 2012; PEREIRA et al., 2023). Essas interações predador-presa podem ter impacto significativo na estrutura de comunidades e na biodiversidade, afetando a distribuição e o comportamento das espécies marinhas.

Além disso, as interações entre os organismos podem levar à coevolução, onde as espécies envolvidas desenvolvem adaptações específicas para melhor se ajustarem umas às outras. Essas adaptações podem incluir mecanismos de camuflagem, comportamentos de defesa, mudanças na morfologia, sinalizações químicas e até mesmo mudanças genéticas. A coevolução impulsionada por interações ecológicas no meio marinho resulta em uma rede complexa de relações

entre os organismos, moldando a diversidade e a estrutura dos ecossistemas marinhos (CASTRO & HUBER, 2012; FRANCESCHINI, 2010).

Essas interações também estão diretamente ligadas ao potencial biotecnológico dos produtos naturais de origem marinha, já que a vasta biodiversidade dos oceanos tem fornecido uma rica fonte de moléculas bioativas que, no contexto ecológico, agem como mediadoras químicas nas interações biológicas entre espécies (CARNEIRO, 2017; PEREIRA, 2009; RÉ, 2005).

A ecologia química marinha desempenha papel fundamental na identificação e na seleção de organismos e *habitats* que são promissores para a descoberta de moléculas de interesse biotecnológico. Compreender os processos ecológicos e interações entre organismos marinhos e seu ambiente é essencial para identificar fontes potenciais desses produtos naturais especializados (PEREIRA, 2009; 2011).

Neste contexto, uma interação ecológica de destaque é a bioincrustação, processo em que organismos marinhos colonizam e se fixam em superfícies sólidas. Ela ocorre devido a interações complexas entre organismos incrustantes e as superfícies disponíveis no ambiente marinho. Embora a bioincrustação seja uma resposta natural ao ambiente, ela pode gerar problemas por danificar estruturas artificiais e equipamentos, além de abrigar espécies invasoras que podem causar desequilíbrios ecológicos e impactar negativamente as espécies nativas (BIZINELLA 2015; COUTINHO et al., 2020; SILVA, 2004).

No entanto, a natureza oferece soluções valiosas para lidar com a bioincrustação. Organismos marinhos têm desenvolvido ampla gama de mecanismos naturais para defesa contra a colonização de outras espécies, incluindo a produção de substâncias químicas bioativas. Muitos organismos marinhos produzem metabólitos, como peptídeos, terpenóides, alcaloides e polissacarídeos, que apresentam propriedades anti-incrustantes, inibindo o assentamento e o crescimento de organismos incrustantes (OLIVEIRA, 2022; PEREIRA, 2009).

Sumariamente, as interações ecológicas relacionadas ao processo natural de bioincrustação desempenham papel importante nos ecossistemas marinhos. O estudo dessas interações e o potencial biotecnológico dos produtos naturais de origem marinha podem possibilitar o desenvolvimento de soluções inovadoras para o controle da bioincrustação na indústria marítima (LUÍS, 2014).

2.2 BIOINVASÃO, BIOINCRUSTAÇÃO E SEU CONTROLE ATRAVÉS DE PRODUTOS NATURAIS DE ORIGEM MARINHA

Espécies não nativas, anteriormente denominadas exóticas, podem passar a ser consideradas invasoras quando, ao entrarem em um novo ambiente, o dominam, interferindo na capacidade de sobrevivência de outras espécies, se reproduzindo de forma descontrolada, gerando impactos ambientais, sociais e econômicos, uma vez que afetam a biodiversidade preexistente ou nativa.

[...] um ambiente muito degradado estará mais suscetível à invasão do que aquele ecologicamente equilibrado. Contudo, é importante ressaltar que é baixa a probabilidade de uma espécie exótica sobreviver e, além disso, se estabelecer em um ecossistema diferente daquele de sua origem. Somente espécies com características invasivas conseguem romper barreiras fisiológicas e ecológicas, estabelecendo-se em áreas distintas da original com sucesso reprodutivo, crescimento populacional e dispersão geográfica acelerada (FERNANDES et al., 2012, p. 20).

Tais espécies não nativas podem ser introduzidas em novos ambientes de forma natural, mas, grande parte dos casos de introdução estão correlacionados a atividades humanas, devido principalmente à expansão e globalização do comércio.

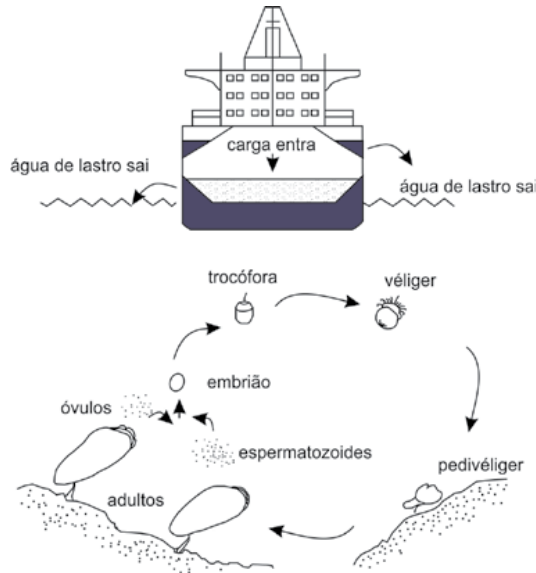
Na Idade Moderna, tem-se o exemplo das Grandes Navegações, processo de exploração e navegação do Oceano Atlântico, compreendido entre os séculos XV e XVI, que contribuíram para a bioinvasão de espécies através da incrustação em cascos de navios.

Atualmente, a introdução de espécies não nativas de potencial ameaça à integridade dos ecossistemas aquáticos, está amplamente relacionada à descarga da água de lastro, tida como vetor no processo de bioinvasão, pelo transporte de organismos de um lugar a outro do planeta nos reservatórios das embarcações de grande porte – navios (DA SILVA SANTOS, 2018).

O uso de água armazenada nos grandes navios marítimos para obter maior estabilidade, ajudar na propulsão e em manobras, a chamada “água de lastro”, é o principal meio de introdução de organismos marinhos em ambientes aquáticos, tanto marinhos como de água doce. Em todo o mundo são transferidas anualmente cerca de 12 bilhões de toneladas de “água de lastro”, que transportam aproximadamente 4.500 espécies diferentes. No Brasil, aproximadamente 95% de todo o comércio exterior é feito por via marítima e estima-se que 40.000 navios visitem os portos brasileiros

anualmente, deslastrando 40 milhões de toneladas de água por ano (SILVA & SOUZA, 2004 apud DE OLIVEIRA et al., 2004, p.2).

Figura 2 - Navio deslastrando água contendo organismos em vários ciclos de vida, enquanto é carregado com mercadorias.



FONTE: FERNANDES et al. (2012, p. 22).

Conhecido como mexilhão dourado, o bivalve invasor *Limnoperna fortunei* é originário da cabeceira do rio Leste, terceiro maior da China, mas foi introduzido no estuário do rio da Prata pela água de lastro oriunda de navios, durante o transporte marítimo. No sul do Brasil, sua ocorrência foi registrada na Bacia do Lago Guaíba (RS), no início de 1999, mas, já em 2004 foi observada no reservatório de Barra Bonita (SP), rio Tietê (DA SILVA et al., 2008; MANSUR et al., 2003), constituindo evidência do grande potencial de dispersão pelo sistema hidroviário nacional e adaptabilidade da espécie, fator de risco para a biodiversidade aquática brasileira.

Em 2001, a hidrelétrica de Itaipu relatou potenciais impactos à geração de energia relacionados ao mexilhão dourado e seu processo de incrustação, causados pela obstrução de tubulações e equipamentos em suas instalações.

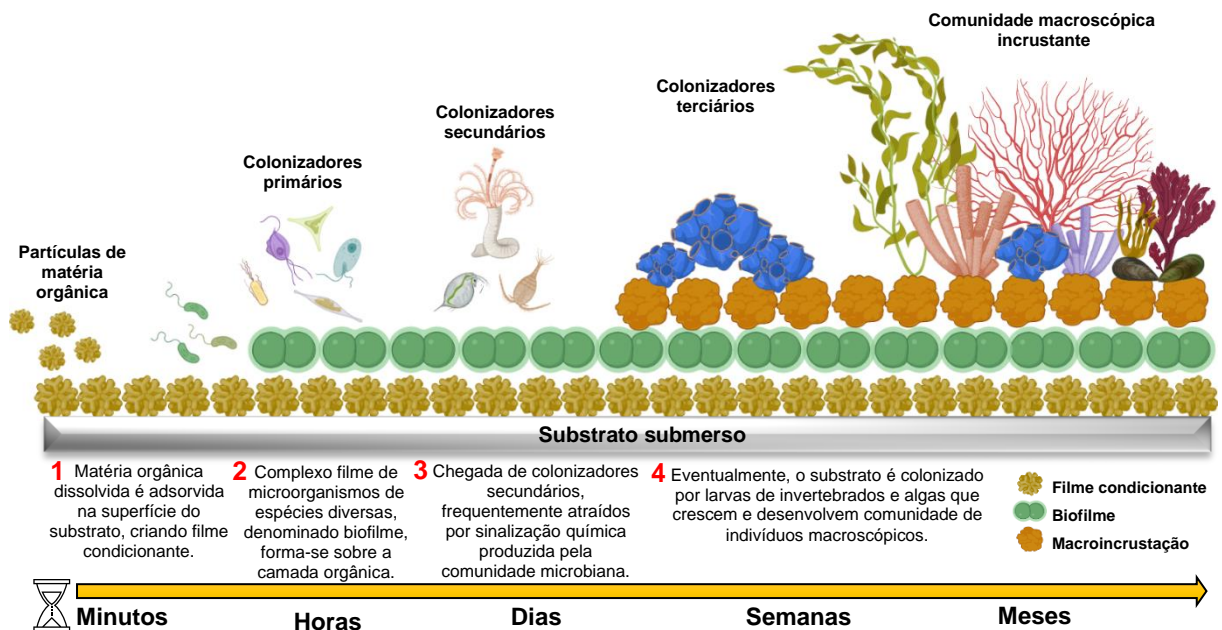
Devido às características sésil, gregária e grande capacidade de proliferação do bivalve ao longo do reservatório, lançou-se mão de diversos testes, em escala experimental, de medidas de controle (químicas e físicas) da espécie, tendo por objetivo avaliar a eficiência e a viabilidade de implantação na Central Hidrelétrica em situações emergenciais (ITAIPU BINACIONAL, 2001).

Pode-se definir a bioincrustação como o processo pelo qual organismos marinhos, como animais, micro- e macroalgas, colonizam e crescem em superfícies

submersas (COUTINHO et al., 2020). Este processo ocorre de forma natural no ambiente, gerando benefícios para os organismos envolvidos, pois pode fornecer proteção contra predadores, suporte físico e acesso a alimentos.

Entretanto, a bioincrustação representa transtornos quando relacionada a estruturas artificiais como cascos de navios, estruturas de aquicultura e equipamentos de energia subaquáticos (DA GAMA et al., 2009).

Figura 3 - Representação esquemática do processo de bioincrustação.



FONTE: Adaptada pela autora, a partir de MARTÍN-RODRÍGUEZ et al. (2015, p.2).

Em substratos artificiais, a bioincrustação pode gerar problemas como aumento da resistência hidrodinâmica, redução da eficiência do combustível e geração de danos estruturais, fatos que tornam seu controle essencial para minimizar esses transtornos, podendo ser realizado por meio de produtos químicos.

Para algas e animais sésseis, todo substrato sólido pode significar um possível local de fixação. [...] Para o bioma aquático, significa uma possibilidade de *habitat*, para a indústria, pode significar deterioração do material e prejuízos diversos, como aumento do peso, arrasto, perda de eficiência dos motores e maior consumo de combustível. A indústria náutica enfrenta esse problema, principalmente, em embarcações de recreio e de serviço as quais permanecem, por tempos longos, em meio aquático (BIZINELLA, 2015, p.8).

O tributestanho (TBT) é uma substância química que foi muito utilizada em tintas anti-incrustantes para prevenir o crescimento de organismos marinhos nos

cascos de navios e outras estruturas submersas. Todavia, ela é extremamente tóxica à vida marinha, e sua liberação no ambiente tem sido associada a uma série de problemas ambientais, incluindo: efeitos nocivos sobre organismos marinhos como moluscos, crustáceos e peixes, que podem sofrer deformações, danos ao sistema nervoso e morte; acúmulo de TBT na cadeia alimentar, com consequências potencialmente graves para a saúde humana; contaminação do sedimento marinho e da água, o que pode levar a mudanças na composição da comunidade biológica e na qualidade da água (DA GAMA & PEREIRA, 1995).

Como resultado desses agravantes, a proibição do uso do TBT em tintas anti-incrustantes tem se tornado uma tendência global, com seu uso regulamentado em muitos países. No entanto, a remoção de TBT de ambientes marinhos pode ser difícil e onerosa, e os efeitos da exposição ao mesmo podem ser duradouros (OLIVEIRA, 2019).

Em 2005, o Brasil proibiu o uso do tributilestano em embarcações menores e restringiu o seu uso em embarcações de maior porte, com o objetivo de proteger a saúde humana e o meio ambiente. A Agência Nacional de Transportes Aquaviários (ANTAQ) é o órgão responsável por fiscalizar o cumprimento dessas regulamentações (CONAMA, 2005).

Atualmente, há várias opções de anti-incrustantes químicos disponíveis no mercado, incluindo opções baseadas em metais, como o cobre e o zinco, e opções biocidas, como o Irgarol e Diuron (ROJAS, 2019).

Anti-incrustantes à base de cobre e zinco funcionam liberando íons destes metais na água, que inibem o crescimento de organismos marinhos na superfície da embarcação. No entanto, o uso excessivo destes pode levar à contaminação da água e ter efeitos nocivos em organismos não-alvo, como algas, mexilhões e outros invertebrados marinhos, levando à morte ou causando danos ao seu desenvolvimento (CASTRO et al., 2011).

Opções biocidas, como os herbicidas Irgarol e Diuron, agem de forma diferente, interferindo na capacidade dos organismos de realizar a fotossíntese. Contudo, assim como as opções à base de metais, esses metabólitos podem ser prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana se forem usados em excesso (ibid.).

Alternativas mais seguras e sustentáveis estão sendo desenvolvidas, incluindo os biolubrificantes, produtos biodegradáveis feitos a partir de óleos vegetais ou animais, mas que ainda geram preocupações quanto ao impacto desses

metabólitos na ecologia marinha. Ainda assim, essas alternativas são mais caras e podem não estar amplamente disponíveis no mercado (OLIVEIRA, 2019).

Produtos naturais de origem marinha têm sido investigados como alternativas aos biocidas sintéticos para o controle da bioincrustação. Esses produtos incluem metabólitos derivados de algas, esponjas, cnidários e bactérias marinhas, que apresentam atividades antimicrobianas e anti-incrustantes (COUTINHO et al., 2020).

A potencialidade biotecnológica dos terpenóides de macroalgas marinhas conhecida hoje vem se constituindo desde os primeiros estudos de bioprospecção realizados com esses organismos [...] As macroalgas marinhas produzem anti-incrustantes para evitar os efeitos adversos de organismos incrustantes sobre elas, os mesmos organismos cuja ação as tintas anti-incrustantes combatem, por exemplo, no casco de embarcações (PEREIRA, 2020, p.453).

A fim de investigar o potencial anti-incrustante de produtos naturais marinhos, Da Gama e colaboradores (2008) testaram extratos e substâncias isoladas de 42 algas distribuídas ao longo da costa brasileira, constatando que, entre estes, os relativos às algas do filo Rhodophyta apresentaram elevada capacidade em inibir o processo de incrustação, seguidas do filo Ochrophyta.

Substâncias naturais podem atuar como repelentes, impedindo a adesão de organismos marinhos às superfícies submersas, ou como biocidas, sendo letal às espécies incrustantes. Além disso, eles têm o potencial de serem menos tóxicos para o meio ambiente do que os biocidas sintéticos, uma vez que já existiram vias naturais para que sejam degradados (COUTINHO et al., 2020). No entanto, há desafios no desenvolvimento e aplicação desses produtos naturais, como a identificação e a produção em larga escala de metabólitos eficazes, a formulação e estabilidade dos produtos, e a avaliação da segurança ambiental.

Em suma, a bioincrustação em substratos artificiais é um problema comum em ambientes marinhos, e os produtos naturais de origem marinha apresentam-se como alternativa mais segura e sustentável aos biocidas sintéticos para fins anti-incrustantes. Contudo, mais pesquisas são necessárias para aprimorar a compreensão dos metabólitos naturais bioativos e seus mecanismos de ação, bem como para avaliar sua eficácia e segurança ambiental em diferentes aplicações e condições ambientais diversificadas.

2.3 MACROALGAS COMO FONTE DE METABÓLITOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO

Pesquisas em biotecnologia marinha têm crescido consideravelmente nos últimos anos, impulsionadas pela grande diversidade de organismos presentes nos oceanos e pelos potenciais benefícios que estes podem oferecer à indústria, saúde e meio ambiente (CARROLL et al., 2022; OLIVEIRA, 2022). Entre os organismos de interesse, destacam-se as macroalgas marinhas, consideradas fontes ricas em produtos naturais com propriedades únicas e potencial terapêutico. Tidas como recurso renovável mais importante dos ecossistemas marinhos e costeiros, são organismos produtores primários que atuam como base da cadeia trófica desempenhando um papel fundamental na estrutura, funcionamento e equilíbrio ecológico (YONESHIGUE-VALENTIN, 2010).

As macroalgas que compõem a comunidade bentônica (indivíduos dependentes de substratos marinhos, consolidados ou não, mesmo que não tenham todo seu ciclo de vida fixo a estes substratos) podem ser encontradas desde a faixa litorânea infralitoral, assim como mesolitoral até a supralitoral (ibid).

Dentre os organismos marinhos presentes nos oceanos e região litorânea, as macroalgas ocorrem praticamente sob todas as condições ambientais, porém, são encontradas em abundância em ambientes aquáticos, onde desempenham o papel de base da cadeia alimentar, além de realizarem fotossíntese (LEE, 1999 apud WANKE, 2018, p.29).

Indivíduos de hábitos predominantemente aquáticos, as macroalgas são organismos multicelulares que se desenvolvem em água doce, salobra ou salgada. Apresentando-se como organismos fotossintéticos, são cruciais para a produção de oxigênio e regulação do clima, já que absorvem dióxido de carbono da atmosfera e o armazenam em suas células (YONESHIGUE-VALENTIN, 2010). Constituem-se tipicamente por talo não diferenciado em raiz, caule e folhas, seja ele um filamento, lâmina ou talo de grande porte (*kelp*). Este talo pode se apresentar na forma de estipe: estrutura similar ao caule, responsável pela sustentação (em algumas espécies) e fixação ao substrato; ou na forma de grampo, semelhante às raízes, que fixa o talo no substrato, sem função de transporte de nutrientes (DE REVIERS, 2008; FRANCESCHINI et al., 2010; YONESHIGUE-VALENTIN, 2010).

Conhecidas por sua variedade de formas, tamanhos e cores, as macroalgas marinhas vêm sendo utilizadas em diversos campos como na alimentação humana e

animal, produção de fertilizantes, composição de fármacos e cosméticos, e como bioindicadores de poluição ambiental (SALOMON & FISTAROL, 2020).

As macroalgas marinhas podem ser classificadas em três grandes grupos em função do tipo de material de reserva e de pigmentos presentes em suas células (GUIRY et al., 2022).

Correspondentes ao filo Rhodophyta, as macroalgas vermelhas apresentam clorofilas a e c, as ficobiliproteínas R-ficoeritrina e R-ficocianina, e normalmente grandes quantidades dos carotenoides betacaroteno, luteína e zeaxantina. As designadas como verdes, filo Chlorophyta, possuem clorofilas a e b e carotenoides, já as algas pardas, filo Ochrophyta (Classe Phaeophyceae), possuem, como as rodofíceas, clorofilas a e c e carotenoides, com predominância de fucoxantina, que lhes confere a cor marrom típica (SALOMON & FISTAROL, 2020).

Macroalgas marinhas são ricas em metabólitos bioativos, como polissacarídeos, proteínas, vitaminas e minerais, que podem ser utilizados em diversas aplicações. Por exemplo, o ácido algínico, um polissacarídeo encontrado em macroalgas marrons, é usado como agente gelificante em alimentos e produtos farmacêuticos. Além disso, o carotenoide astaxantina, presente em algumas espécies de macroalgas vermelhas, é um potente antioxidante e tem sido utilizado em produtos cosméticos para prevenir o envelhecimento da pele (ALMEIDA, 2014; DOS SANTOS, 2023; GUARATINI 2008).

De acordo com Thompson e colaboradores (2020), levantamentos recentes apontam para a existência de mais de 3.000 metabólitos secundários isolados de macroalgas marinhas em todo o mundo, com as espécies de cada filo (Chlorophyta, Ochrophyta e Rhodophyta).

Entre as diversas aplicações de metabólitos bioativos provenientes destes organismos, tem-se como exemplo o potencial inibitório do crescimento de bactérias Gram-positivas, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, e de Gram-negativas, *Pseudomonas fluorescens* e *Eicherichia coli*, por polissacarídeos extraídos da macroalga vermelha *Pterocladia capillacea* e da macroalga parda *Dictyopteris membranacea* (THOMPSON et al., 2020).

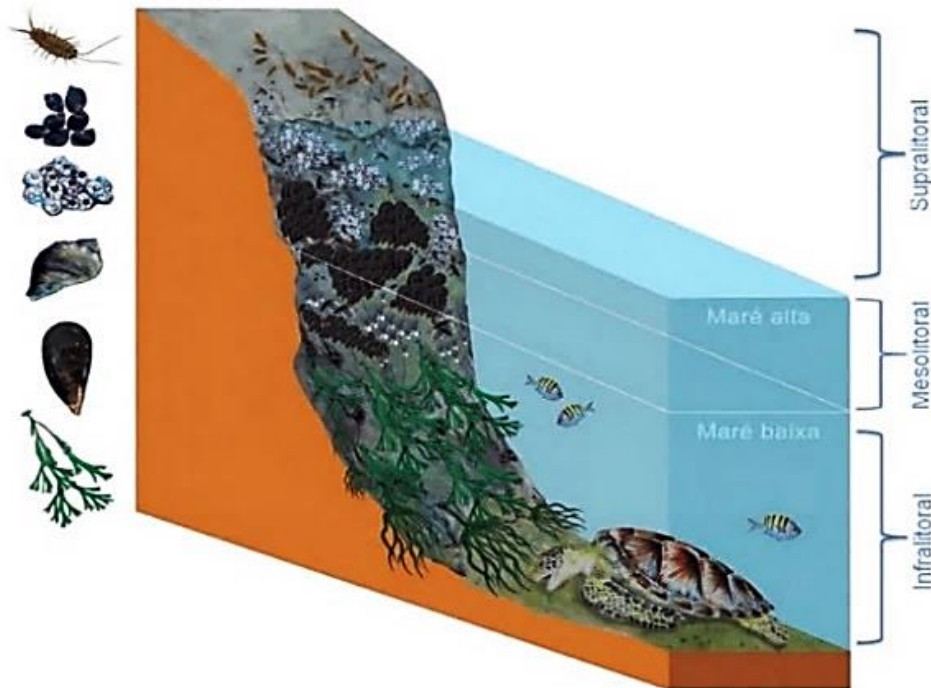
Terpenóides isolados a partir de extratos de *Laurencia dendroidea* apresentaram atividade antileishmania contra a forma promastigota de *Leishmania amazonenses* (MACHADO et al., 2009)

Em relação aos ficocolóides, o ágar, extraído de diversos gêneros e espécies de algas marinhas vermelhas, continua a ser o meio ideal para a cultura e seleção de hospedeiros microbiológicos na engenharia genética, assim como na cultura de tecidos *in vitro* (FERREIRA, 2015; SANTOS & COSTA, 2013).

2.4 *Laurencia dendroidea* J. AGARDH (RHODOPHYTA, RHODOMELACEAE)

Têm-se no complexo *Laurencia* um exemplo típico de espécies com capacidade de se desenvolver e se manter em ambientes variados. As espécies deste complexo são encontradas desde regiões tropicais a temperadas do globo terrestre, crescendo em ambientes que vão da faixa inferior da região entremarés até o infralitoral³, tanto em costões rochosos quanto em ambientes recifais (FUJII & SENTÍES, 2005; GERLING, 2016).

Figura 4 - Zonação em costões rochosos.



FONTE: Adaptado de GERLING, 2016 por SALMAZO et al. (2018, p.34).

O complexo *Laurencia* abrange espécies de ampla distribuição em todo o mundo, incluindo atualmente oito gêneros: *Laurencia* Lamouroux, *Osmundea*,

³ Região entremarés: também conhecida como *intertidal*, faz parte da zona Mesolitoral, ficando exposta na maré baixa e submersa na maré alta. Infralitoral: zona permanentemente submersa, onde se encontram espécies que não toleram dessecação (SALMAZO et al., 2018, p.33).

Chondrophyucus, *Palisada*, *Yuzurua*, *Laurenciella*, *Coronaplycus* e *Ohelopapa* (ROSSEAU et al., 2017 apud WANKE, 2018, p.29).

Nos últimos anos, a biotecnologia marinha tem explorado as propriedades das macroalgas a fim de gerar novos produtos e serviços, como por exemplo, a produção de biocombustíveis, cosméticos, suplementos alimentares, fármacos e materiais de aplicação na indústria naval.

Dentre os variados recursos naturais marinhos de responsabilidade e direito de usufruto da nação brasileira, têm-se a macroalga *Laurencia dendroidea* J. Agardh (1852). Organismo bentônico encontrado por quase toda a costa nacional (figuras 5 e 6), como consta no Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBR)⁴, esta macroalga pertence ao filo Rhodophyta, que engloba as macroalgas comumente denominadas vermelhas devido a predominância de pigmentos em suas estruturas que refletem tal cor.

Figura 5 – Aspecto geral de *Laurencia dendroidea*.

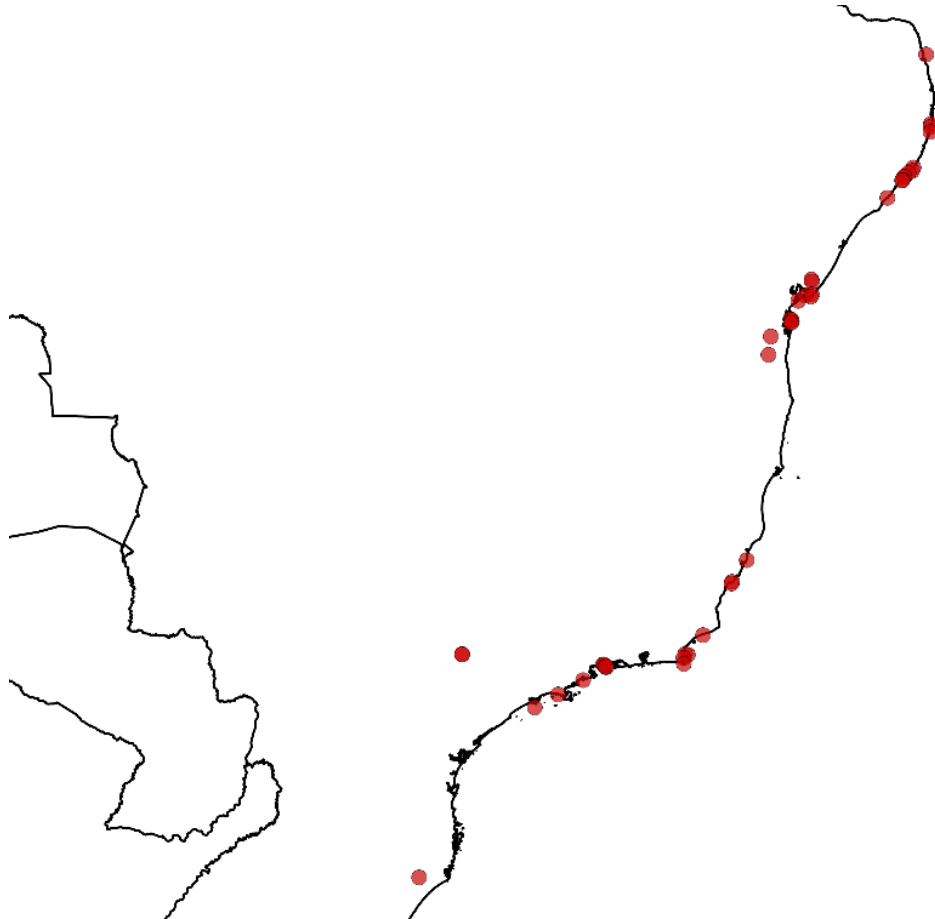


FONTE: GEPRONAS – UFSC, s.d.

⁴ Plataforma *online* que integra dados e informações sobre a biodiversidade e os ecossistemas brasileiros de diferentes fontes, fornecendo subsídios para a gestão governamental relacionada à conservação e uso sustentável (BRASIL – SiBBR, 2015)

Esta espécie de macroalga vermelha tem por característica formar talos marrom-púrpura ou violeta-esverdeados, com 4 a 20 cm de altura e localidade tipo no Brasil (CASSANO et al., 2012; DE OLIVEIRA, 2015).

Figura 6 - Esboço dos 171 registros de ocorrência de *L. dendroidea* pelo Brasil, de acordo com o SiBBr.



FONTE: BRASIL – SiBBr, 2015.

Possui grande potencial biotecnológico, devido à presença de uma variedade de metabólitos secundários bioativos. Entre tais metabólitos, têm-se os sesquiterpenos, terpenóides dominantes entre as macroalgas vermelhas, particularmente em espécies de *Laurencia*, um gênero com mais de uma centena de espécies, distribuídas em regiões marinhas costeiras temperadas e tropicais de todo o mundo (GUIRY et al., 2022).

A seguir, tem-se a classificação taxonômica da alga *Laurencia dendroidea*, de acordo com o Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil (CTFB), constante no SiBBr (BRASIL, 2015) e Guiry et al. (2022).

Classificação Taxonômica

Domínio Eukaryota

Reino Plantae

Filo Rhodophyta

Subfilo Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Subclasse Rhodymeniophycidae

Ordem Ceramiales

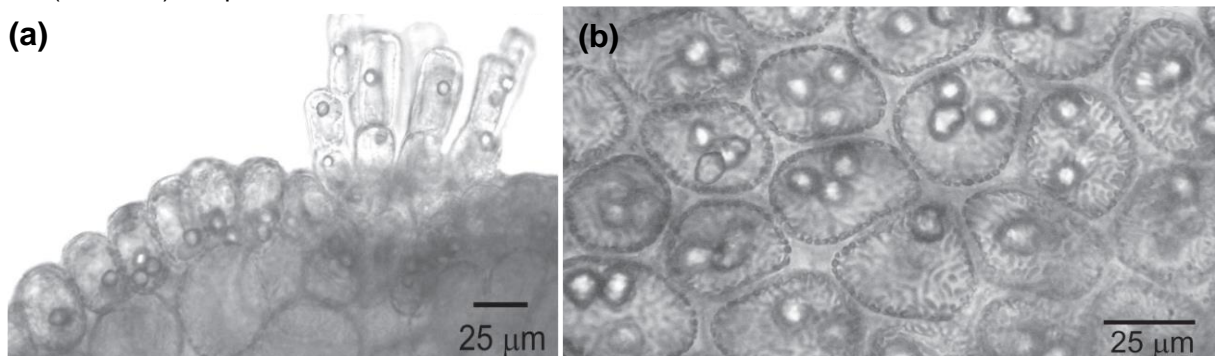
Família Rhodomelaceae

Gênero *Laurencia* J.V. Lamouroux

Espécie *Laurencia dendroidea* J. Agardh

Em relação aos metabólitos destas macroalgas, algumas espécies do gênero *Laurencia* apresentam inclusões em suas células corticais e tricoblastos, denominadas corpos em cereja (*corps en cerise*). A presença ou ausência destes, sua quantidade por célula e tamanho podem ser tomados como um caráter taxonômico (DE OLIVEIRA, 2015; FUJI et al., 2012; MASUDA et al., 1996 apud LEAL, 2007).

Figura 7 - *Corps en cerise* (CC) em *Laurencia dendroidea*. **(a)** Corte longitudinal de ramo mostrando um CC por tricoblasto e até três CC em células corticais. **(b)** Células corticais em vista superior mostrando um (dois-três) CC por célula.



FONTE: FUJII et al. (2012, p.8).

Estas estruturas especializadas são sugeridas como locais de biossíntese ou armazenamento de metabólitos secundários halogenados, biossintetizados por espécies de *Laurencia*, havendo necessidade de isolamento destes corpos por membranas devido à natureza autotóxica de seu conteúdo (SUDATTI et al., 2008).

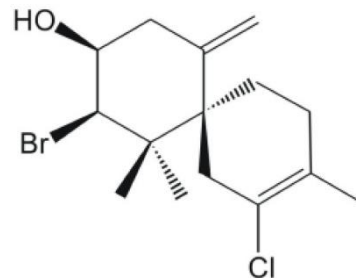
Estudos comprovam que tais estruturas possuem canais de comunicação com a superfície celular, que conectam os corpos em cereja ao citoplasma periférico da

célula, por meio do qual o conteúdo destas se difunde pela parede celular em direção a superfície da macroalga. A liberação dos metabólitos destes corpos tem finalidade ecológica de defesa (PARADAS et al., 2010).

Metabólito secundário isolado também a partir de *L. dendroidea*, o terpenóide obtusol corresponde a um diterpeno com propriedades antibacterianas e antitumorais (BARCELLOS MARINI et al., 2018). Estudos sugerem que o obtusol também apresenta atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. Além disso, este metabólito também possui atividade antioxidante e anti-inflamatória (SALVADOR-NETO et al., 2016).

Outro metabólito de interesse biotecnológico produzido por *L. dendroidea* que se destaca é o elatol, um sesquiterpenóide bromado com atividade antitumoral, antimicrobiana, anti-inflamatória e anti-HIV (GODARTH, 2017; GRESSLER, 2011). O elatol também tem sido investigado como agente no controle de biofilmes microbianos em sistemas aquáticos (DA GAMA, 2008).

Figura 8 – Estrutura química do elatol, metabólito secundário isolado a partir da macroalga *Laurencia dendroidea*.



FONTE: DOS SANTOS et al., 2010.

Este metabólito é encontrado em maior abundância em algumas espécies de macroalgas marinhas do filo Rhodophyta, incluindo o gênero *Laurencia* (PEREIRA et al., 2003), que produzem o elatol como parte do seu sistema de defesa contra herbívoros e outras formas de predação. Tem-se lançado mão deste viés ecológico para a investigação de potenciais aplicações biotecnológicas.

A prospecção anti-incrustante relacionada a *L. dendroidea* tem sua vez devido à capacidade que esta espécie possui de produzir metabólitos que inibem o crescimento de biofilmes em sua superfície, abrindo possibilidades para a aplicação deste potencial em superfícies submersas artificiais, prevenindo a formação de incrustações em equipamentos e estruturas submarinas, otimizando processos através da exploração responsável dos recursos marinhos.

3 JUSTIFICATIVA

Organismos incrustantes são um problema grave para a indústria naval, uma vez que seu assentamento em massa pode levar à obstrução das tubulações e redução do desempenho de embarcações e plataformas. A fim de evitar este problema, são utilizados anti-incrustantes químicos que podem ter efeitos negativos no meio ambiente, contaminando cursos d'água e prejudicando organismos marinhos.

O preocupar-se crescente com a sustentabilidade e a proteção do meio ambiente tem impulsionado a busca por produtos naturais marinhos com potencial para combater a bioincrustação. A utilização de anti-incrustantes químicos é altamente regulamentada e muitos desses produtos foram banidos em vários países devido aos seus impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente. Nesse contexto, produtos de origem natural são vistos como uma alternativa promissora, pois eles podem representar menor toxicidade e impacto ambiental.

Sendo assim, estudos com enfoque na aplicabilidade de produtos naturais marinhos no combate à bioincrustação se justificam pelos impactos negativos dos anti-incrustantes químicos ao meio ambiente e pela necessidade de se encontrar formas mais sustentáveis com implicações positivas para a economia e para a indústria naval, procedendo tal busca de forma responsável e sustentável, levando em consideração os impactos ambientais do processo e buscando contribuir para a preservação dos recursos marinhos.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade natural da macroalga *Laurencia dendroidea* (J.Agardh, 1852), coletada em cinco locais distintos da costa brasileira, de inibir o processo de bioincrustação marinha.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A partir de extratos orgânicos da macroalga *L. dendroidea* de cinco localidades distintas, investigar potencial de inibir o processo de bioincrustação marinha, ao refrear a fixação por filamentos de bisco de mexilhões *Perna perna*;
- Avaliar se há diferença na fixação por filamentos de bisco entre mexilhões *P. perna* expostos a extratos distintos obtidos a partir de *L. dendroidea* coletada em cinco locais da costa sudeste brasileira, ao final de 24h;
- Identificar a presença de gametas produzidos por mexilhões *P. perna*, dentro de cada tratamento, ao final das 24h;
- Avaliar se há mortalidade dos organismos incrustantes, após contato com cada tratamento, ao final de 48h.

5 HIPÓTESE

Macroalgas *Laurencia dendroidea* de localidades distintas podem, à concentração natural, exibir diferentes potenciais de atividade anti-incrustante.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS ALGÁCEAS

Para avaliar a atividade da macroalga *L. dendroidea* em relação ao processo de incrustação por organismos marinhos, foram realizadas análises com seu extrato orgânico.

Os extratos foram cedidos pela Dr^a. Angélica Ribeiro Soares, Grupo de Produtos Naturais de Organismos Aquáticos (GPNOA), NUPEM, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Macaé-RJ, sendo que a coleta dos exemplares da espécie *L. dendroidea*, classificados neste estudo como AZED, BISC, FORN, MANG E VERM, se deu em cinco diferentes localidades, de acordo com a tabela 1.

Tabela 1 - Locais de coleta das amostras de *L. dendroidea*. Adaptado de MACHADO, 2014.

CÓDIGO	LOCAL DE COLETA	COORDENADAS	ANO DE COLETA
AZED	Praia Azeda-Búzios-Rio de Janeiro (RJ)	22°44033.6" S, 41°52055.6" O	2011
BISC	Enseada do Biscaia-Angra dos reis-Rio de Janeiro (RJ)	23°01033.7" S, 044°14008.1" O	2011
FORN	Praia do Forno-Arraial do Cabo-Rio de Janeiro (RJ)	22°58003.3" S, 42°00056.2" O	2011
MANG	Praia Manguinhos-Serra- Espírito Santo (ES)	20°11013.9"S, 040°11025.4" O	2010
VERM	Praia Vermelha-Paraty-Rio de Janeiro (RJ)	23°11035.0" S, 044°38039.0" O	2011

O processo ao qual o material algáceo foi submetido, a fim de se obter os extratos orgânicos relativos ao local de coleta de cada amostra de *L. dendroidea* em estudo, foi realizado e descrito por Machado (2014). Sendo Diclorometano (DCM) o solvente utilizado para a extração do material, o rendimento dos extratos em relação ao peso seco das algas correspondentes a cada localidade amostrada, está exposto na tabela 2.

Ocorrendo ao longo da costa brasileira, a espécie *L. dendroidea* habita tanto zonas entremarés quanto o infralitoral raso. Trabalhos recentes sugerem que

diferentes perfis químicos podem estar presentes, nesta espécie, de acordo com o local de coleta (MACHADO et al., 2016, p.1).

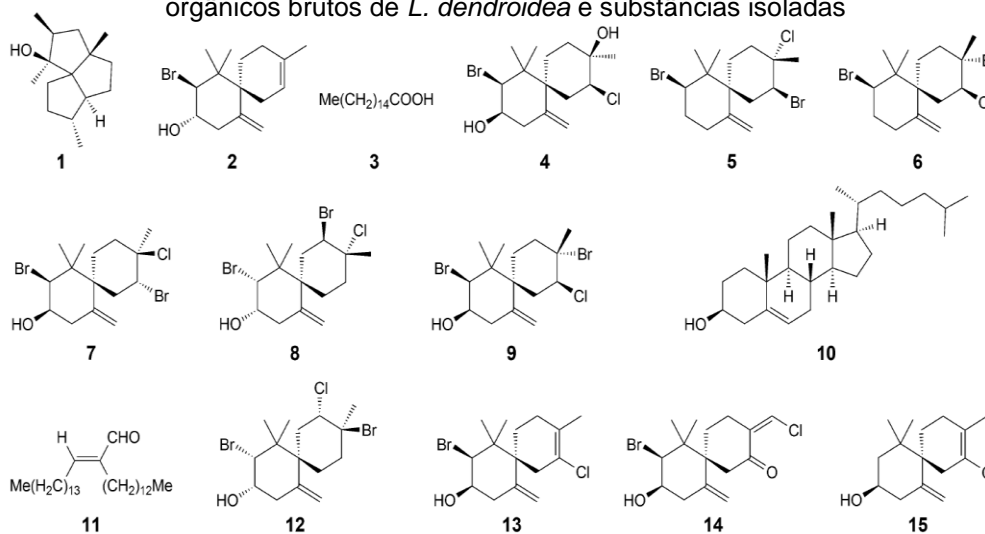
O material algáceo referente aos extratos AZED, BISC, FORN, MANG e VERM, deste estudo, teve sua caracterização química explorada e descrita por Machado e colaboradores em 2016.

Tabela 2 - Rendimento de extrato orgânico em relação ao peso seco de *L. dendroidea* coletada em localidades distintas. Adaptado de MACHADO, 2014.

CÓDIGO	PESO SECO (g)	EXTRATO BRUTO (g)	RENDIMENTO
AZED	27,46	0,35	1,27%
BISC	476,78	12,84	2,69%
FORN	168,67	3,13	1,86%
MANG	422,63	14,97	3,54%
VERM	111,20	2,50	2,25%

Os perfis químicos das amostras foram obtidos por espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa⁵ (GC/MS, sigla em inglês) e, através da análise espectroscópica dos extratos orgânicos brutos fracionados e metabólitos isolados, houve a caracterização de 15 metabólitos (figura 8), entre as quais apenas 4 foram observados em todas as amostras de *L. dendroidea* em estudo, sendo eles o sesquiterpeno triquinano (1), ácido hexadecanóico (3), colesterol (10), e (E)-2-tridecilheptadecenal (11).

Figura 9 - Substâncias caracterizadas a partir da análise espectroscópica dos extratos orgânicos brutos de *L. dendroidea* e substâncias isoladas



FONTE: MACHADO et al., 2016.

⁵ Método analítico que combina os recursos da cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massa para identificar substâncias diversas de forma específica em uma amostra (CHIARADIA et al., 2008, p.623).

Em se tratando de metabólitos de interesse biotecnológico, as áreas relativas de sesquiterpenos, em cada exemplar relativo ao local de coleta da macroalga, obtidas pela média de amostras individuais por Machado e colaboradores (2016), estão apresentadas na tabela 3 (estruturas químicas na figura 9).

Tabela 3 - Teor relativo de sesquiterpeno expresso como área percentual do pico do metabólito obtido por análise GC/MS de extratos de *L. dendroidea* de localidades distintas. Adaptado de MACHADO et al., 2016.

METABÓLITOS	LOCAIS DE COLETA				
	Azeda	Biscaia	Forno	Manguinhos	Vermelha
Triquinano (1)	6,18 ± 0,17	23,95 ± 0,27	18,52 ± 0,79	1,27 ± 0,04	19,08 ± 0,68
10-Bromo-chamigrano-3,7(14)-dieno-9-ol (2)	ND	ND	0,80 ± 0,12	2,75 ± 0,88	ND
Dendroidiol (4)	ND	ND	11,13 ± 0,34	8,58 ± 0,35	ND
Nidificeno (5)	ND	ND	ND	1,32 ± 0,58	ND
Obtusano (6)	ND	1,39 ± 0,12	3,72 ± 0,42	0,97 ± 0,07	0,38 ± 0,02
Cartilagineol (7)	ND	ND	0,33 ± 0,03	3,28 ± 0,20	ND
Rogiolol (8)	ND	ND	ND	11,97 ± 0,78	ND
Obtusol (9)	ND	11,80 ± 0,31	18,71 ± 0,83	23,74 ± 1,78	0,37 ± 0,01
Isoobtusol (12)	0,72 ± 0,02	ND	0,07 ± 0,01	ND	ND
Elatol (13)	51,57 ± 2,17	25,37 ± 0,16	ND	ND	23,15 ± 0,82
Dendroidone (14)	ND	1,50 ± 0,11	ND	ND	ND
Desbromo-elatol (15)	ND	ND	ND	ND	6,57 ± 0,46
Total de sesquiterpenos identificados	3	5	7	8	5

ND = Não Detectado

Valores correspondem à média ± SD, N = 15.

6.2 COLETA DOS ORGANISMOS MARINHOS INCRUSTANTES

O organismo marinho incrustante utilizado como modelo para este ensaio em laboratório foi o mexilhão *Perna perna* (LINNAEUS, 1758), espécie de grande importância para os ambientes em que habita, já que estrutura a comunidade em litorais rochosos, sendo bioatratora de diversidade (FREITAS & VELASTIN, 2010).

Foi descrita na literatura como eficiente método para determinação do potencial anti-incrustação de diferentes extratos, uma vez que estes organismos são frequentemente encontrados associados a algas (ALFARO et al., 2004 apud DA GAMA et al., 2008; DAVIS & MORENO 1995; EYSTER & PECHENIK 1988; LASIAK & BARNARD, 1995; PETERSEN, 1984).

Coletados durante maré baixa no Costão rochoso da Praia Grande, Arraial do Cabo-RJ, coordenadas 22°97'67.22" S, 42°03'50.14" O (figura 10), os mexilhões

foram posteriormente transportados para laboratório, no Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM), também em Arraial do Cabo, e mantidos em tanques de 20 L para aclimação, com água do mar a 22°C e aeração constante, durante 12 horas.

Figura 10 - Local de coleta dos indivíduos incrustantes, no banco natural do mexilhão *Perna perna*, pelo costão rochoso da Praia Grande, Arraial do Cabo – RJ (22°97'67.22" S, 42°03'50.14" O).



FONTE: GOOGLE EARTH PRO, 2023.

Após a aclimação, procedeu-se cuidadosamente com a higienização dos organismos para que estes fossem desagregados e limpos de estruturas de fixação (filamentos de bissos⁶) e epífitas anteriores ao estudo, permanecendo em observação para a seleção dos exemplares que apresentassem caráter exploratório de procura por local de assentamento através da exposição do seu pé muscular, como exposto na figura 11a.

⁶ Feixes de filamentos pelos quais moluscos bivalves fixam-se ao substrato (CARVALHO, 2022).

Figura 11 - (a) Mexilhões *Perna perna* expondo pé muscular para exploração do substrato. **(b)** Mensuração do tamanho de concha de indivíduo desagregado e limpo.



FONTE: AUTORA, 2023.

Espécimes juvenis de *P. perna* de aproximadamente 1,5 a 3,0 cm de comprimento de concha foram selecionados e distribuídos entre as réplicas de cada um dos tratamentos, posteriormente ao período de aclimação e limpeza, de forma que cada placa de Petri contivesse três exemplares, sendo utilizados 210 indivíduos por ensaio. Ao final do estudo, os mexilhões ainda viáveis foram devolvidos ao local de coleta.

6.3 MONTAGEM DO ENSAIO *L. dendroidea* x *P. perna*

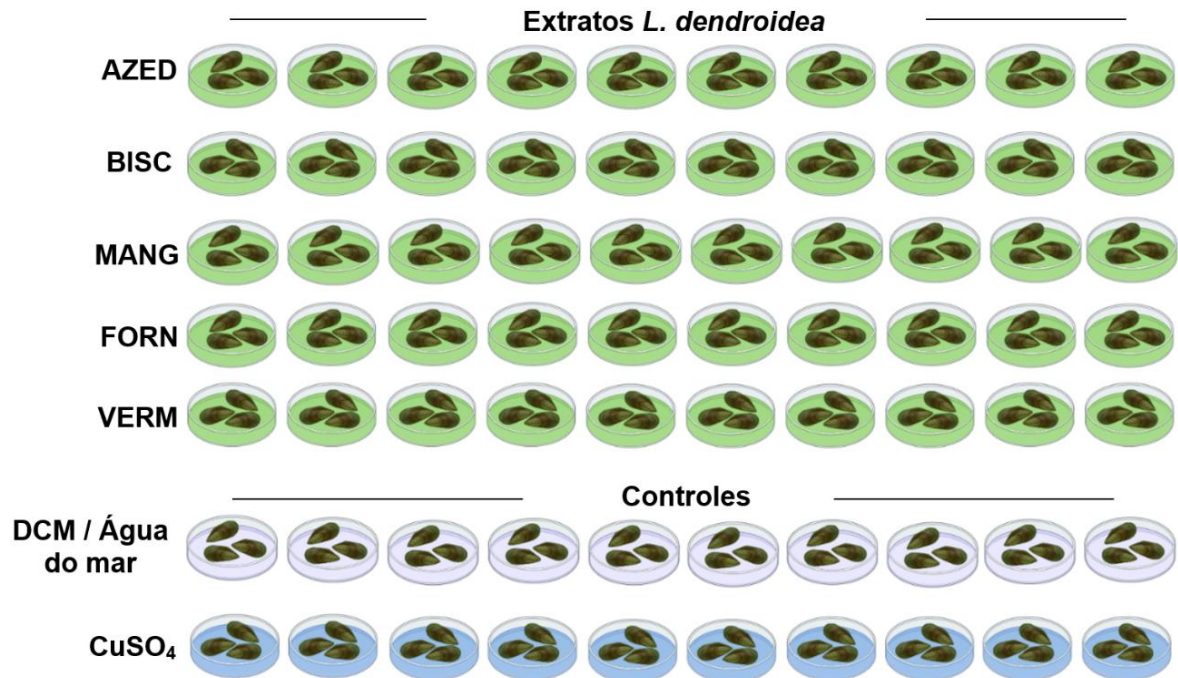
A metodologia deste estudo anti-incrustação foi adaptada a partir dos trabalhos já publicados de Da Gama et al. (2003, 2008) e Ina et al. (1989), com ensaio instalado no Laboratório de Produtos Naturais do IEAPM.

Determinou-se o Diclorometano (DCM) como solvente na preparação das soluções tratamento, uma vez que este foi utilizado no processo de extração do material algáceo (MACHADO, 2014).

Como controle positivo, foi utilizado sulfato de cobre (CuSO_4) à concentração de $15\mu\text{M}/\text{mL}$ de DCM (DA GAMA, 2003), por compor biocidas usualmente empregados em tintas anti-incrustantes comerciais. Já o controle negativo foi composto apenas por solvente, sem adição de concentrados.

A incorporação das soluções nos discos se deu em capela e, assim que evaporado o solvente, cada placa de Petri contendo disco tratado recebeu um adicional de 12mL de água do mar.

Figura 12 – Ilustração esquemática do ensaio *L. dendroidea* vs. *P. perna*, com distribuição dos mexilhões entre réplicas controle e extratos orgânicos brutos à concentração natural de *L. dendroidea* de localidades distintas.



FONTE: AUTORA, 2023.

Após a incorporação e secagem dos discos, os organismos marinhos incrustantes foram dispostos de 3 em 3 entre as réplicas de cada um dos tratamentos, sendo eles: Controle Positivo – CuSO₄, Controle Negativo – CTR Negativo, e os tratamentos referentes aos locais de coleta das algas (tabela 1), correspondendo a Praia Azeda – AZED, Enseada do Biscaia – BISC, Praia do Forno – FORN, Praia de Manguinhos – MANG e Praia Vermelha – VERM, resultando em 70 placas de Petri contendo disco de papel filtro tratado e água do mar. Este momento foi considerado como hora zero.

Já em contato com os tratamentos, os mexilhões foram mantidos em condições ambientes de luminosidade e temperatura, a fim de se expressar a atividade natural de exploração e fixação em substratos.

6.3.1 Concentração Natural dos extratos orgânicos

A fim de simular os espécimes da alga em estudo, discos de papel filtro, dispostos em placas de Petri vítreas de 60mm x 15mm, foram utilizados como substrato artificial.

Com 5cm de diâmetro e pesando em média 0,14g, os discos foram incorporados com 500µL de solução tratamento, volume suficiente para embeber toda a área do substrato. Ao todo teve-se 7 tratamentos, sendo 5 referentes aos extratos correspondentes às localidades de coleta de *L. dendroidea* e 2 aos controles positivo e negativo.

As soluções à base de extrato orgânico bruto foram preparadas à concentração natural [mg/mL] relativa ao rendimento de extração [%] de *L. dendroidea*, coletada em diferentes locais, utilizada neste estudo (tabelas 2 e 4), calculadas pela equivalência do extrato em peso seco de alga em relação ao peso seco do disco de papel filtro.

O volume de DCM utilizado na solubilização de cada concentrado correspondeu a 8mL, calculado com sobressalência a fim de garantir a concentração natural necessária até o fim da incorporação em cada um dos 10 discos de seus respectivos tratamentos, mesmo com a volatilidade típica do solvente.

Tabela 4 - Concentrações naturais dos extratos orgânicos brutos referentes a cada amostra de *L. dendroidea* de localidades distintas, calculadas com base no rendimento de extração e relacionadas ao peso seco dos discos de papel filtro, por mL de DCM.

EXTRATO BRUTO	CONCENTRAÇÃO NATURAL [mg/mL] *
AZED	25,551
BISC	53,808
MANG	70,795
FORN	37,197
VERM	45,007

*Para cada 1g de papel filtro.

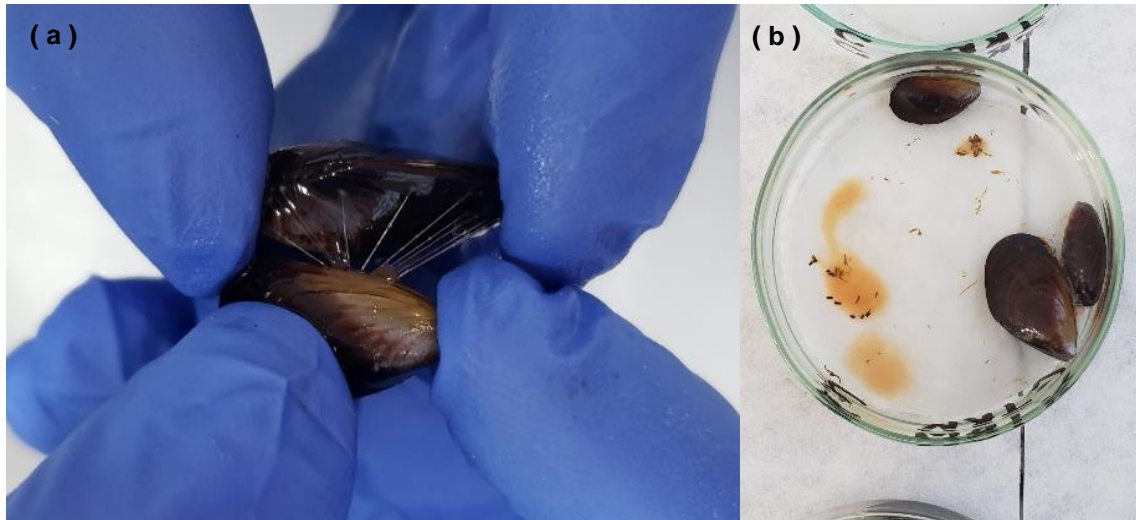
6.3.2 Atividade anti-incrustante e Mortalidade

A contabilização das estruturas de fixação produzidas e presença de gametas por réplica (figura 13) se deu em 24 horas após exposição dos mexilhões aos tratamentos, momento considerado como hora 24. A presença de gametas, contabilizada visualmente, foi tomada como possível indicativo de estresse ou resposta positiva ao ambiente.

Finalizados os procedimentos das primeiras 24h, os mexilhões foram transferidos e acondicionados em recipientes vítreos com água do mar a 22 °C, por mais um dia (hora 48), para checagem de nova presença de gametas e possível mortalidade relacionada à exposição dos mexilhões às substâncias em teste. Tal

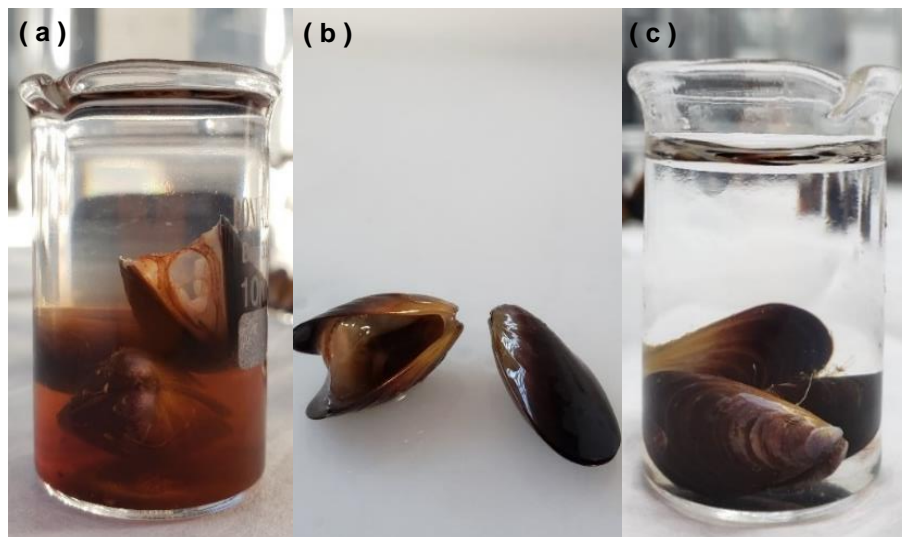
toxicidade foi mensurada por análise visual levando em consideração a resposta ao toque, valva aberta e perda tecidual dos mexilhões *P. perna* (figura 14).

Figura 13 - (a) *Perna perna* e seus filamentos de bisco fixados em concha de outro indivíduo. **(b)** Presença de gametas (coloração alaranjada) observada a olho nu.



FONTE: AUTORA, 2023.

Figura 14 - Critérios para avaliação visual da mortalidade dos mexilhões. **(a)** Réplica apresentando indivíduos com perda tecidual. **(b)** Indivíduo da esquerda com valva aberta em demasia, enquanto indivíduo da direita ainda viável. **(c)** Réplica com indivíduos viáveis.



FONTE: AUTORA, 2023.

6.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram obtidos a partir de dois experimentos independentes, contendo 10 réplicas por tratamento, sendo 3 indivíduos incrustantes por réplica.

Transcorridas 24 horas de contato com os discos tratados, a condições de temperatura e luminosidade semelhantes ao ambiente natural, a avaliação da atividade anti-incrustante dos extratos de *L. dendroidea* foi feita por meio da contagem total de filamentos de bissos produzidos por réplica pelos mexilhões submetidos a cada tratamento, podendo eles estarem fixados nos filtros, paredes das placas ou nas conchas de outros mexilhões.

Os dados biológicos foram registrados em planilhas *Excel*® e posteriormente, utilizando-se o programa *GraphPad Prism* versão 9 para *Windows*® (GRAPHPAD, 2023), submetidos a testes de normalidade e comparação por meio da análise de variância.

Mediante Teste de Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$), quando constatado caráter não paramétrico de distribuição dos dados, e análise de variância de fator único - *One way ANOVA* - (Teste de Tukey *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$), quando constatado caráter paramétrico de distribuição, foram analisados os parâmetros de fixação de filamentos de bissos, liberação de gametas e mortalidade dos mexilhões submetidos aos tratamentos com extrato bruto a concentrações naturais [mg/mL] e controles.

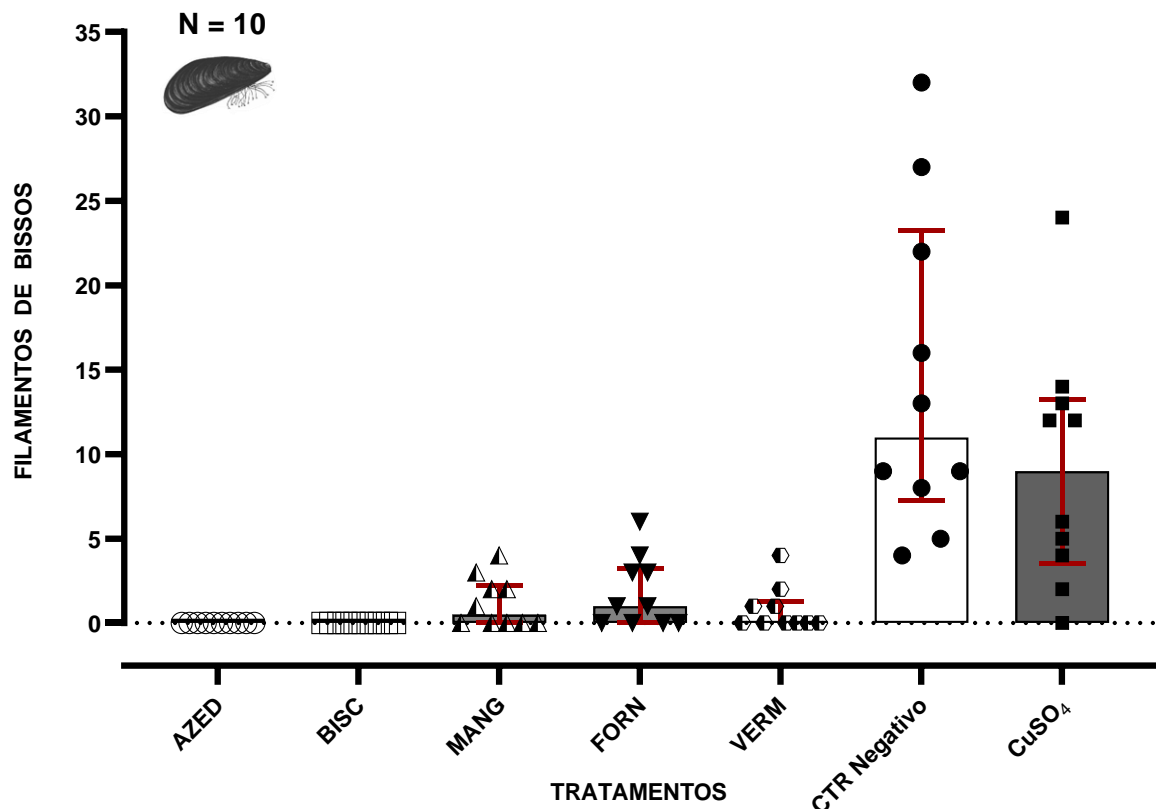
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 PROSPECÇÃO ANTI-INCRUSTANTE

Ao distribuir os tratamentos nas placas de Petri, optou-se por incorporar as soluções em todo o disco de papel filtro, uma vez que as substâncias nos discos acabam por também se difundir em água do mar.

Após testes de normalidade, foi constatado caráter não paramétrico de distribuição dos dados coletados para os parâmetros de fixação por filamentos de bisco e liberação de gametas. Nos ensaios com os extratos AZED, BISC e VERM foi verificada a menor fixação mediana dos filamentos, em relação aos outros tratamentos, após transcorridas 24h (figura 15).

Figura 15 - Filamentos de bisco fixados por réplica (medianas e IQR). N = número de réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$).



Em AZED e BISC, não houve fixação de bisco em nenhuma das réplicas submetidas a extratos de espécimes de *L. dendroidea* provenientes destas localidades. Já em VERM, a amplitude de fixação entre as réplicas foi de 0 a 4

filamentos. Ainda assim, os valores medianos de fixação, correspondentes a estes três tratamentos, equivaleram a zero, seguidos de MANG, FORN, CuSO₄ e CTR Negativo, com medianas correspondendo a 0,5; 1; 9 e 11, respectivamente.

A escolha da macroalga *L. dendroidea* para a investigação de possível detecção de bioincrustantes se deu pela supracitada produção de metabólitos secundários de interesse biotecnológico das macroalgas pertencentes ao filo Rhodophyta e desta espécie em questão (DA GAMA et al., 2008, DE OLIVEIRA, 2015).

Os ensaios realizados, utilizando-se a concentração natural dos extratos de *L. dendroidea* de cada uma das 5 localidades em teste, tiveram por finalidade refletir a concentração real do material extraído encontrada nesta macroalga e o que este fator pode implicar nas interações ecológicas e potencial aplicabilidade biotecnológica dos resultados obtidos.

Para esta bioprospecção, o organismo utilizado como indicador biológico da efetividade dos tratamentos foi o mexilhão *Perna perna*. Geralmente, estes bivalves se estabelecem em costões rochosos, estuários e baías, muitas vezes em altas densidades. Possuem fecundidade elevada e larvas de natação livre que asseguram sua ampla distribuição (FREITAS & VELASTIN, 2010).

O potencial de aplicabilidade em testes de incrustação e toxicidade do *P. perna* se deve ao preenchimento de certos requisitos, uma vez que este é de fácil coleta, possui disponibilidade não sazonal, adaptabilidade a condições laboratoriais, assim como sensibilidade a substâncias químicas, além de sua importância ecológica e econômica. Tais requisitos são fatores que podem justificar a sua utilização como espécie bioindicadora em vários estudos (FO & RESGALLA, 2002).

A diferença observada entre os resultados dos ensaios utilizando os extratos orgânicos AZED, BISC e VERM em comparação aos demais (FORN e MANG), pode ter provável relação com o sesquiterpeno elatol. Este sesquiterpeno é o componente majoritário de *L. dendroidea*, já que na caracterização química desta macroalga, Machado (2016) relatou que justo as amostras referentes a estes locais de coleta foram aquelas que possuíam os maiores teores relativos deste metabólito, expresso como área percentual do pico do metabólito, quando submetidas ao processo de espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa, com respectivos valores de 51,57%, 25,37% e 23,15% (Tabelas 3 e 7).

Uma das primeiras publicações científicas a citar o metabólito elatol data de 1974, intitulada "Marine natural products x elatol, a halogenated sesquiterpene alcohol from the red alga *Laurencia elata*", por Sims, Lin e Wing (apud PEREIRA, 2020). Neste trabalho, os autores isolaram e caracterizaram a estrutura do elatol a partir da alga marinha *Laurencia elata*, identificando suas propriedades físicas e químicas, com potencial antimicrobiano.

Desde então, este metabólito tem sido objeto de muitos estudos, tanto sobre sua síntese e estrutura química quanto sobre suas atividades biológicas e potenciais aplicações biotecnológicas, como atividade antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória, anti-incrustante, entre outras.

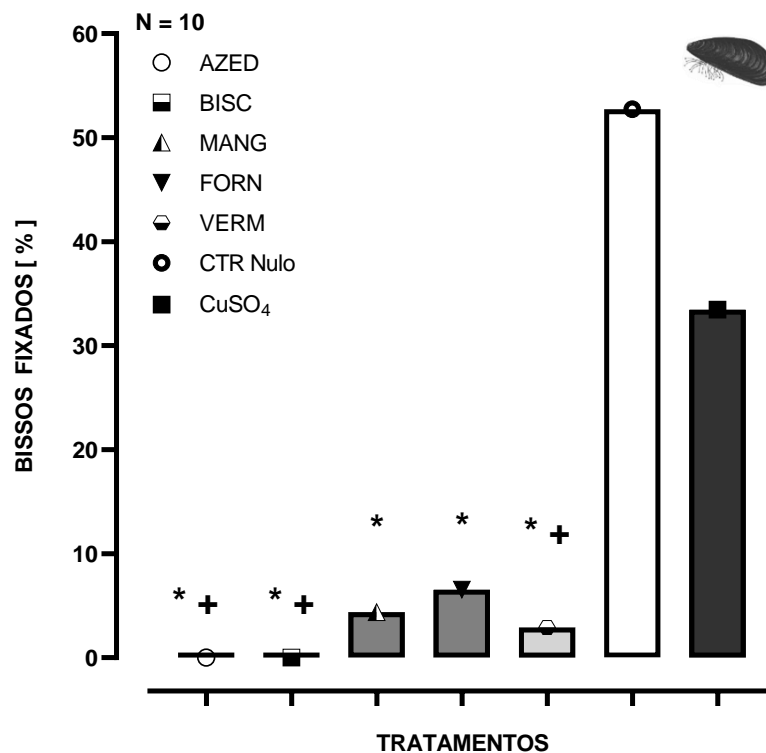
König e colaboradores (1997) ao observarem que exemplares de *Laurencia rigida* permaneciam relativamente livres de organismos incrustantes em seu ambiente natural, procederam com bioensaios para a investigação química dos extratos orgânicos da alga e sua prospecção anti-incrustante. A partir de tais ensaios, foi constatada a atividade anti-incrustante dos componentes elatol e descloroelatol, obtidos a partir do extrato em DCM de *L. rigida*, à concentração de 100ng/cm², uma vez que tais metabólitos foram responsáveis pela inibição de quase 100% do assentamento de larvas de *Balanus amphitrite*.

Neste estudo, é possível pressupor uma correlação diretamente proporcional entre os resultados de fixação por bissos e o metabólito elatol, principalmente ao se comparar as amostras AZED, BISC e VERM com as MANG e FORN, onde este metabólito não foi ao menos detectado e que, neste ensaio, apresentaram fixação mediana de filamentos de bissos e porcentagem de fixação superiores, quando comparadas às réplicas tratadas com os outros extratos orgânicos brutos (figuras 15 e 16).

Ao serem submetidos a múltiplas comparações em relação ao número de bissos fixados [%], os dados dos tratamentos correspondentes aos extratos orgânicos, para N = 10 e p-valor < 0,05, não apresentaram diferença significativa entre si, assim como também não foi observada diferença estatística entre as réplicas submetidas aos controles positivo (CuSO₄) e negativo (CTR Negativo), mas foi possível verificar significância quanto a comparações dos extratos das diferentes localidades de coleta de *L. dendroidea* com os tratamentos controle, sendo estas as destacadas na figura 16.

Por mais que as réplicas submetidas aos tratamentos com extratos orgânicos não tenham apresentado diferença estatística entre si, é possível observar eficácia na utilização de *L. dendroidea*, em especial as correspondentes à Praia Azeda (AZED) e Enseada do Biscaia (BISC), quanto à prospecção de inibir o processo de bioincrustação, em comparação a condições de controle negativo e a substância presente em controles anti-incrustantes tradicionais (CuSO_4).

Figura 16 - Filamentos de bissos fixados [%] ao final de 24h e identificação de diferença significativa entre mexilhões *P. perna* submetidos aos extratos orgânicos brutos de *L. dendroidea* em comparação aos controles negativo e positivo. Contabilizados filamentos de bissos fixos em disco, superfície das placas e conchas de outros indivíduos. N = número de réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn a posteriori para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$).



* Significância em relação a CTR Negativo, para $p < 0,05$
 + Significância em relação a CuSO_4 , para $p < 0,05$

Tabela 5 - Detecção, após 24h, de diferença significativa entre extratos orgânicos brutos de *L. dendroidea* de localidades distintas, em comparação aos controles negativo e positivo, mediante teste de Kruskal Wallis (teste de Dunn a posteriori para múltiplas comparações) quando $p < 0,05$.

TRATAMENTO	PRODUÇÃO MEDIANA DE BISSOS	BISSOS FIXADOS [%]	p-valor em comparação a CTR Negativo	p-valor em comparação a CuSO_4
AZED	0	0	$p < 0,0001$ *	$p = 0,0005$ +
BISC	0	0	$p < 0,0001$ *	$p = 0,0005$ +
MANG	0,5	4,36	$p = 0,0076$ *	$p = 0,1524$ ns
FORN	1	6,55	$p = 0,0369$ *	$p = 0,5172$ ns
VERM	0	2,91	$p = 0,0016$ *	$p = 0,0442$ +
TOTAL DO ENSAIO	275	100		

* Significância em comparação a CTR Negativo.
 + Significância em comparação a CuSO_4 .

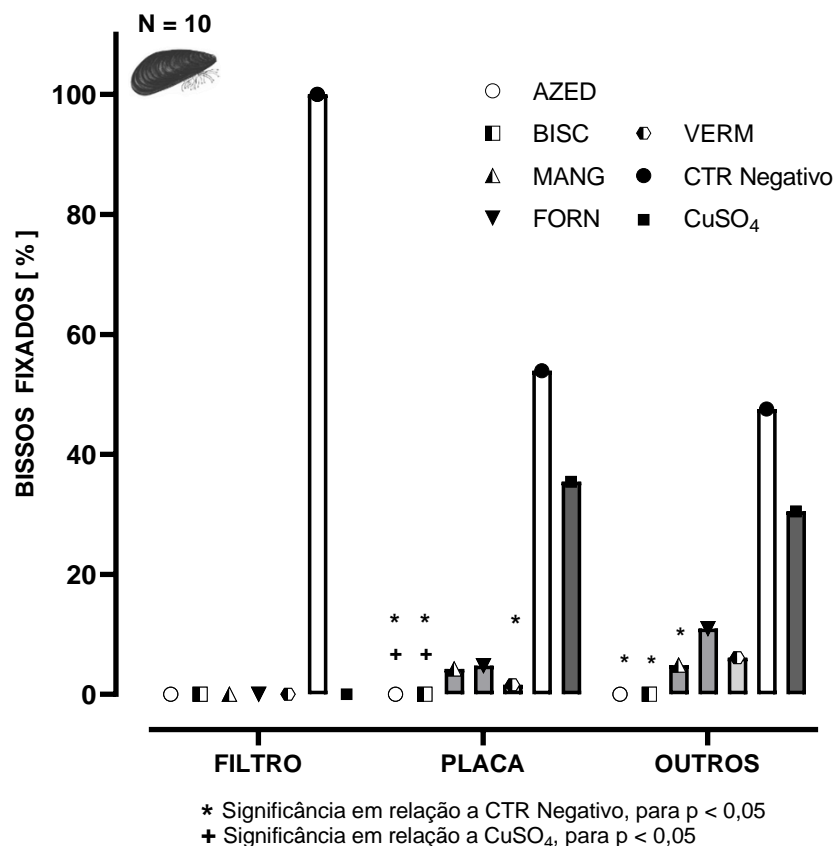
ns = não significativo.

Em um total de 70 réplicas, foram contabilizados, ao final de 24h de ensaio, 275 filamentos de bisco fixados pelos organismos incrustantes. Deste todo, 52,73% corresponderam ao CTR Negativo e 33,45% ao controle positivo, representando quase 90% do total de filamentos de bisco.

Quando contabilizados os números de bisco fixados pelos mexilhões, de acordo com o local de fixação neste ensaio, nota-se o efeito positivo dos extratos de *L. dendroidea* em inibir o processo de incrustação, em relação às réplicas submetidas ao controle negativo.

Ao se observar a figura 17 e tabela 6, houve quase nenhuma fixação de filamentos nos discos de papel filtro, sendo que, do total contabilizado nestes, 100% corresponderam ao CRT Negativo, indício da eficácia de medidas de controle da bioincrustação adotadas neste estudo, mesmo quando não foi possível se identificar diferença significativa entre os tratamentos, para $p < 0,05$.

Figura 17 - Filamentos de bisco fixados [%] em papel filtro, placa e outros indivíduos após 24h de contato com tratamentos. N = número de réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$).



Do total de bisco, os fixados nas placas de Petri corresponderam a mais da metade da produção, sendo que, dos 68,73% destes, 54% referiram-se aos indivíduos

submetidos ao controle negativo e 35,4% aos submetidos ao controle positivo. Os extratos AZED e BISC apresentaram efeito significativamente distinto dos controles negativo e positivo, mas VERM apenas distinguiu-se do controle negativo (figura 17; tabela 6).

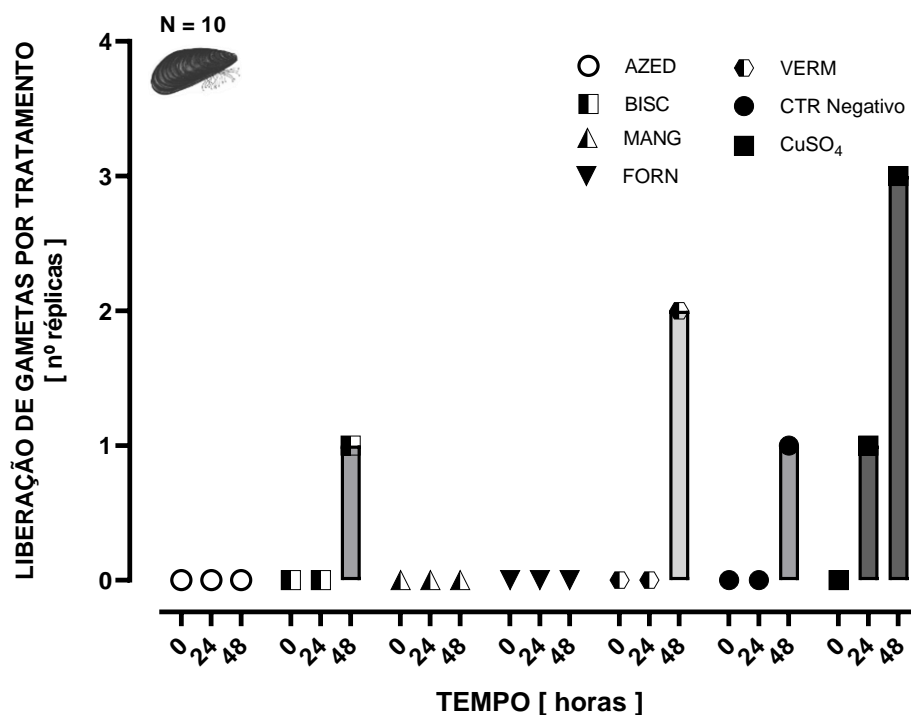
Quando comparados os tratamentos, em relação à fixação de bisco em outros indivíduos, novamente observou-se elevada porcentagem de filamentos fixos entre *P. perna* submetidos aos controles negativo e positivo, com valores de 47,6% e 30,5%, respectivamente. Houve efeito estatisticamente significativo apenas entre os mexilhões tratados com os extratos AZED (0%), BISC (0%) e MANG (4,9%), e somente quando relacionados ao controle negativo.

Tabela 6 - Local de fixação dos filamentos de bisco e porcentagem relativa ao total de bisco fixados em 24h de ensaio.

LOCAL DE FIXAÇÃO	NÚMERO DE BISSOS	BISSOS FIXADOS [%]
Disco de Papel Filtro	4	1,45
Placa de Petri	189	68,73
Outros Indivíduos	82	29,82
TOTAL	275	100

Para o parâmetro produção de gametas, ao nível de significância de $\alpha = 0,05$, não houve diferença estatística entre as réplicas distribuídas entre os 7 tratamentos (figura 18).

Figura 18 - Registro da liberação de gametas por tratamento, de mexilhões *P. perna*, entre 0h e 48h, com ocorrência expressa em número de réplicas, em um total de N = 10 réplicas por tratamento. Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$).

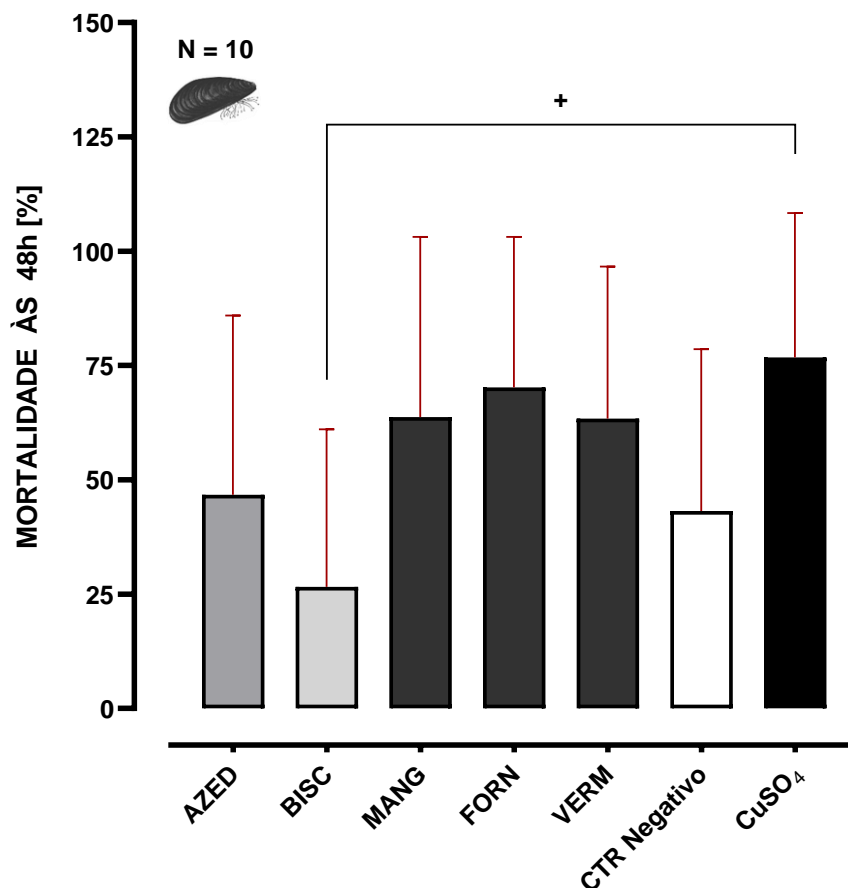


A liberação de gametas, quase não foi constatada nos marcadores temporais de 0h, 24h e 48h, gerando apenas observações pontuais, como disposto na figura 18, não sendo possível atrelar os resultados a sinais de estresse ou pista positiva para assentamento dos mexilhões.

7.2 MORTALIDADE

Após análise de variância e múltiplas comparações entre os dados, não houve praticamente diferença significativa, ao nível de significância de 5%, entre os tratamentos (figura 19). Apenas as amostras submetidas ao extrato orgânico de espécimes de *L. dendroidea* de BISC apresentaram valor de p inferior a 0,05, sendo que tal significância foi observada somente quando comparadas às réplicas submetidas ao tratamento contendo Sulfato de Cobre (BISC vs. CuSO_4 , $p = 0,0350$).

Figura 19 - Mortalidade de indivíduos *P. perna* [%] (média \pm SD), após transcorridas 48h de ensaio, em que houve diferença significativa apenas entre os tratamentos BISC e CuSO_4 , sendo 3 indivíduos por réplica e $N =$ número de réplicas por tratamento. *One way ANOVA* (Teste de Tukey *a posteriori* para múltiplas comparações; $\alpha = 0,05$).



+Significância estatística em comparação a CuSO_4 , para $p < 0,05$

Ao se comparar os tratamentos, em relação à sobrevivência dos indivíduos após 48h de ensaio, torna-se evidente o caráter mais agressivo do sulfato cúprico (CuSO₄) quanto à mortalidade dos organismos incrustantes submetidos a este, ainda assim, não tão distante do efeito provocado pelos extratos orgânicos brutos correspondentes às amostras de Manguinhos (MANG), Praia do Forno (FORN) e Praia Vermelha (VERM).

Entre as diferentes amostras de *L. dendroidea*, em investigação neste estudo, se torna evidente a maior toxicidade do extrato bruto correspondente à Praia do Forno, uma vez que, mesmo testado à uma das menores concentrações (tabela 7), provocou a segunda maior porcentagem de mortalidade entre os sete tratamentos, sendo esta correspondente à 70% de indivíduos não viáveis, dentro do total de 30 exemplares submetidos a este extrato orgânico.

Tabela 7 - Comparativo entre dados e resultados obtidos a partir da investigação do extrato orgânico de *L. dendroidea* coletada em 5 localidades da costa sudeste brasileira.

Extrato bruto	Rendimento de extração [%] **	Concentração Natural [mg/mL]*	Teor relativo de Elatol por GC/MS [%] **	Filamentos de bissos [%]	Mortalidade média [%]
AZED	1,27	25,551	51,57	0	47
BISC	2,69	53,808	25,37	0	27
MANG	3,54	70,795	ND	4,36	64
FORN	1,86	37,197	ND	6,55	70
VERM	2,25	45,007	23,15	2,91	63

ND = Não detectado. *Concentração Natural em mg de extrato orgânico bruto por mL de DCM, para cada 1g de papel filtro. **FONTE: MACHADO et al. (2014; 2016).

Analisando-se as amostras de *L. dendroidea*, relativas aos 5 locais de coleta, com maior eficácia em refrear o processo de bioincrustação, destaca-se o extrato bruto BISC, pois foi capaz de inibir em 100% a fixação por filamentos de bissos de indivíduos incrustantes, provocando mortalidade de apenas 27% dos *P. perna* submetidos a ele (tabela 7), fator positivo ao se prospectar a utilização de produtos naturais bioativos de origem marinha no mercado naval, uma vez que deseja-se evitar prejuízos materiais e econômicos causados pelo processo de bioincrustação em substratos artificiais, sem provocar desequilíbrio e impactos ambientais irreparáveis.

8 CONCLUSÃO

Os extratos de espécimes de *L. dendroidea* de locais distintos, em investigação neste estudo, apresentaram prospecção positiva quanto à inibição do processo de incrustação, frente ao bivalve *P. perna*, quando comparadas a substância presente em controles convencionais. Todos os extratos orgânicos, correspondentes aos locais de coleta de *L. dendroidea* testada, apresentaram eficácia em inibir a fixação de filamentos de bissos de *P. perna*, quando comparados ao controle negativo. No entanto, não foi verificada diferença significativa entre os extratos orgânicos de *L. dendroidea* testados, impossibilitando, a princípio, provar que espécimes desta macroalga de diferentes localidades apresentam distintas atividades anti-incrustantes, quando utilizadas à concentração natural do rendimento de extração.

Entre as amostras investigadas, os espécimes de *L. dendroidea* provenientes da Praia do Forno, Arraial do Cabo – RJ, apresentaram menor desempenho de seu extrato (FORN) quanto a inibir a fixação de *P. perna*, mas causaram maior mortalidade de indivíduos deste mexilhão, em relação aos outros extratos orgânicos. Por outro lado, destaca-se *L. dendroidea* coletada na Enseada do Biscaia, Angra dos Reis - RJ, por seu extrato orgânico (BISC) ter exibido maior atividade frente à fixação de *P. perna*, além de ter causado uma menor taxa de mortalidade de indivíduos deste mexilhão.

Em função dos testes terem sido realizados à concentração natural do rendimento de extração a partir do peso seco dos espécimes de *L. dendroidea* coletados, os resultados podem ser interpretados como atividade anti-incrustante natural assim como potencial biotecnológico.

Faz-se necessário posteriores testes, com os extratos a novas concentrações, a fim de se prospectar distintas atividades anti-incrustantes de *L. dendroidea* de diferentes localidades, e identificação de metabólitos responsáveis pelos resultados obtidos neste estudo, mas é possível afirmar que esta espécie pode ser uma fonte promissora de metabólitos anti-incrustantes, com aplicações práticas na prevenção da bioincrustação em superfícies artificiais submersas.

REFERÊNCIAS

AGARDH, Jacob Georg. **Species genera et ordines algarum: seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur, volumen secundum: algas florideas complectens, part 3, fasc. 1, p. 701–786.** C.W.K. Gleerup, Lundae.1852.

ALFARO, Andrea C.; JEFFS, Andrew G.; CREESE, Robert G. Bottom-drifting algal/mussel spat associations along a sandy coastal region in northern New Zealand. **Aquaculture**, v. 241, n. 1-4, p. 269-290, 2004.

ALMEIDA, Hugo Wesley Barros. **Extração, caracterização estrutural e atividades farmacológicas do alginato obtido da alga marrom *Lobophora variegata* (Lamouroux) Oliveira Filho, 1977.** 2014. 85 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica; Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

ALVES DA SILVA, C. J.; DO NASCIMENTO MALTA, D. J. A importância dos fungos na biotecnologia. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - PERNAMBUCO, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 49, 2017.** Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/facipesaude/article/view/3210>. Acesso em: 3 out. 2022.

AROUXA, Savana Kely Albuquerque. **Vulnerabilidade funcional das comunidades de corais brasileiras à invasão do Coral-Sol (*Tubastraea* spp.).** 2022, 59 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas Bacharelado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/47418>>. Acesso em 03 mar. 2023.

ATANASOV, A. G., WALTENBERGER, B., PFERSCHY-WENZIG, E. M., LINDER, T., WAWROSCH, C., UHRIN, P., ROLLINGER, J. M. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 8, p. 1582-1614, 2015.

BARBOSA JP ; FLEURY, BG ; TEIXEIRA, VL ; DA GAMA, BAP ; PEREIRA, R.C. Natural products as antifoulants in a Brazilian brown alga *Dictyota paffii* (Phaeophyta, Dictyotales). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 549-553, 2007.

BARCELLOS MARINI, María; DE FREITAS , William Rodrigues; MACHADO, Fernanda Lacerda da Silva; LEAL, Ivana Correa Ramos; SOARES, Angélica Ribeiro; KANASHIRO, Milton Masahiko; MUZITANO, Michelle Frazão. Cytotoxic activity of halogenated sesquiterpenes from *Laurencia dendroidea*. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 6, p. 1119-1125, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/ptr.6052>>. Acesso em: 02 abr. 2023.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**, 1a ed., Ed. Artmed: Porto Alegre, 2001.

BATISTA, Daniela.; GRANTHOM-COSTA, Luciana. V.; COUTINHO, Ricardo. **Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico,**

Ecologia e Conservação. Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira, 407 p., Arraial do Cabo, RJ, 2020.

BERLINCK, R. G., BORGES, W. D. S., SCOTTI, M. T., VIEIRA, P. C.. The chemistry of natural products In Brazil In The XXI Century. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.

BERNARDI, Darlon I.; BERTONHA, Ariane F. ; QUINTANA BULLA, Jairo I.; TONON, Luciane A. C.; FREIRE, Vitor F. ; GUBIANI, Juliana R.; ÍOCA, Laura P. ; NICÁCIO, Karen J. ; RODRIGUEZ, Julie P. G.; TAKAKI, Mirelle; BERLINCK, Roberto G. S. Produtos Naturais *In*: THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Editora FURG, 2020. p.465-495.

BIZINELLA, Pâmela Luiza Freitas. **Bioincrustação em compósitos à base de fibra de vidro e suas consequências na indústria náutica**. 2015, 71 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Graduação em Engenharia Naval, *Campus Joinville*, Universidade Federal de Santa Catarina. Joinville - SC, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/133854>>. Acesso em 16 fev. 2023.

BRANDELLI, Clara Lia Costa. Plantas medicinais: Histórico e conceitos. *In*: MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. **Farmacobotânica**: aspectos teóricos e aplicação. Porto Alegre: Artmed. 2017. p. 1-13.

BRASIL. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBIO. **MMA lança Plano Nacional de Combate ao Lixo no Mar**. Brasília, 2019. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/10246-mma-lanca-plano-nacional-de-combate-ao-lixo-no-mar>. Acesso em 21 fev. 2023.

BRASIL. Marinha do Brasil. Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM. Novas Perspectivas na Pesquisa de Anti-incrustantes Marinhos. **A Ressurgência**, n. 4, p 10-12, 2010. Disponível em: < https://www.marinha.mil.br/ieapm/revista_ressurgencia>. Acesso em: 10 jan. 2023.

BRASIL. Marinha do Brasil. Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM. VIII Seminário Brasileiro sobre Água de Lastro. **A Ressurgência**, n. 8, p 24-25, 2015. Disponível em: < https://www.marinha.mil.br/ieapm/revista_ressurgencia>. Acesso em: 10 jan. 2023.

BRASIL. Marinha do Brasil. **X Plano Setorial para os Recursos do Mar (2020-2023)**. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.marinha.mil.br/secirm/psrm/sobre>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações – MCTI. Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBr). **Catálogo Taxonômico da Fauna Brasileira (CTFB)**. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Brasília, 2015. Disponível em: < <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/391853#overview>>. Acesso em: 20 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Medicamentos** – Conceitos e definições. Brasília – DF. s.p. 2020. Disponível em: <encurtador.com.br/xMZ27> Acesso em 3 out. 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente - MMA. **Responsabilidade socioambiental/agenda-21**. Brasília, 2021. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/responsabilidade-socioambiental/agenda-21/agenda-21-global.html>. Acesso em: 31 mar. 2023.

BRITO, Ana Carolina Lucena; POZZETTI, Valmir César. Biodiversidade, conhecimentos tradicionais associados e repartição de benefícios. **Revista de Direitos Difusos**, v. 69, n. 1, p. 51-63, 2018.

BRITO, Mateus de Freitas. **Produtos naturais marinhos na produção de fármacos**. 2021. 43p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói – RJ, 2021. Acesso em: 16 fev. 2023.

CAIN, Michael L.; BOWMAN, William D.; HACKER, Sally D. **Ecologia**. Artmed Editora, 691p. 2017.

CALEGARIO, Gabriela et al. Cloning and functional characterization of cycloartenol synthase from the red seaweed *Laurencia dendroidea*. **PLoS One**, v. 11, n. 11, p. e0165954, 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165954>>. Acesso em: 31 mar. 2023.

CALLEGARI-JACQUES, Sidia M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Artmed Editora, 2009.

CARNEIRO, Nathália Peixoto Nocchi. **Sinalização química mediando interações ecológicas entre a macroalga vermelha *Laurencia dendroidea* e seu herbívoro associado *Aplysia brasiliana***. 2017. 242 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra, Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, 2017. Disponível em:< <http://app.uff.br/riuff/handle/1/25093>>. Acesso em: 31 out. 2022.

CARROLL A., COPP B., DAVIS R., KEYZERS R., PRINSEP M. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 39, n. 6, p. 1122-1171, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/D1NP00076D>>. Acesso em: 06 fev. 2023.

CARVALHO, Amanda Costa. **Efeitos da acidificação dos oceanos na adesão de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus,1758)**. 2022. 32 f. Trabalho de Conclusão da Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói - RJ, 2022. Disponível em: <<http://app.uff.br/riuff/handle/1/27321>>. Acesso em 30 jan. 2023.

CASSANO, Valeria. **Taxonomia e filogenia do complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta), com ênfase no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 328 p. il. Tese (Doutorado) - Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2009.

CASSANO, Valéria; METTI, Yola; MILLAR, Allan J.K.; GIL-RODRÍGUEZ, María Candelaria; SENTÍES, Abel; DÍAZ-LARREA, Jhoana; OLIVEIRA, Mariana C.; FUJII, Mutue T. Redefinam the taxonomic status of *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil and the Canary Islands. **European Journal of Phycology**, vol. 47, p.67–81, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09670262.2011.647334>>. Acesso em: 20 jan. 2023.

CASTRO, Ítalo B.; WESTPHAL, Eliete; FILLMANN, Gilberto. Tintas anti-incrustantes de terceira geração: novos biocidas no ambiente aquático. **Química Nova**, v. 34, p. 1021-1031, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600020>>. Aceso em 30 nov. 2022.

CASTRO, Peter; HUBER, Michael E. **Biologia marinha**. AMGH Editora, 480 p. 2012.

CHIARADIA, Mariza C.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel CSF. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, p. 623-636, 2008.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: < http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf >. Acesso em: 31 jan. 2023.

COUTINHO, Ricardo; MESSANO, Luciana V. R; SILVERIO, Fernando; GRANTHOM COSTA, Luciana V.; BATISTA, Daniela; GONÇALVES, José Eduardo Arruda. Bioincrustação E Bioinvasão Sob A Perspectiva da Biotecnologia Marinha. In: THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Editora FURG, 2020. p.575-599.

CROPLIFE BRASIL. **A Biotecnologia e o desenvolvimento da humanidade**. 2020. Disponível em: < <https://croplifebrasil.org/conceitos/a-biotecnologia-e-o-desenvolvimento-da-humanidade/#:~:text=O%20que%20%C3%A9%20biotecnologia%3F,%E2%80%9D%20quer%20dizer%20%E2%80%9Cconhecimento%E2%80%9D.>> Acesso em: 20 jan. 2023.

DA GAMA, B. A. P.; CARVALHO, A. G. V.; WEIDNER, K.; SOARES, A. R.; COUTINHO, R.; FLEURY, B. G.; PEREIRA, R. C. Antifouling activity of natural products from Brazilian seaweeds. **Botanica Marina**, 51(3), 2008. Disponível em:< <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/BOT.2008.027/html>>. Acesso em 24 fev. 2023.

DA GAMA, Bernardo Antônio Perez; PEREIRA, Renato Crespo. 1995. Poluição por TBT no ambiente marinho: o dilema das tintas anti-incrustantes das tintas anti-incrustantes. **Anais do IV Congresso Brasileiro de Defesa do Meio Ambiente**, Clube de Engenharia. p 275-285.

DA GAMA, Bernardo Antônio Perez; PEREIRA, Renato Crespo; COUTINHO, Ricardo. A Bioincrustação Marinha. *In*: PEREIRA, Renato Crespo; SOARES-GOMES, Abílio. **Biologia Marinha**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2009. p. 299-318.

DA GAMA, Bernardo Antônio Perez; PEREIRA, Renato Crespo; SOARES, Angélica Ribeiro; TEIXEIRA, Valéria Laneuville; YONESHIGUE-VALENTIN, Yocie. Is the mussel test a good indicator of antifouling activity? A comparison between laboratory and field assays. **Biofouling**, v. 19, n. S1, p. 161-169, 2003.

DA SILVA SANTOS, Júlio Gustavo Augusto; LAMONICA, Maurício Nunes. Água de lastro e bioinvasão: introdução de espécies exóticas associada ao processo de mundialização. **Vértices**, v. 10, n. 1/3, jan./dez. 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/1809-2667.20080012>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

DAVIS, Andrew R.; MORENO, Carlos A. Selection of substrata by juvenile *Choromytilus chorus* (Mytilidae): are chemical cues important? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 191, n. 2, p. 167-180, 1995.

DE MOURA, Luiz Antônio Abdalla. **Qualidade e gestão ambiental: Sustentabilidade e ISO 14001**. Freitas Bastos, 588p. 2023.

DE OLIVEIRA, Louisi Souza. **Transcriptomic profile and defense strategies in the red seaweed *Laurencia dendroidea* J. Agardh**. 2015. 157 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, 2015.

DE OLIVEIRA, Márcia Divina; PELLEGRIN, Luiz Alberto; BARRETO, Rafael Rodrigues; DOS SANTOS, Claudiane Lúcia; XAVIER, Izabella Gomes. Área de ocorrência do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) na bacia do Alto Paraguai, entre os anos de 1998 e 2004. **Embrapa Documentos**, n. 64. Embrapa Pantanal. Corumbá – MS. 2004. Disponível em:<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/812054>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

DE REVIERS, Bruno. **Biologia e filogenia das algas**. Artmed Editora, 2008.

DEVKAR, Heena U.; THAKUR, Narsinh L.; KAUR, Parvinder. Marine-derived antimicrobial molecules from the sponges and their associated bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 1-16, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/cjm-2022-014>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

DOS SANTOS, Adriana Oliveira; VEIGA-SANTOS, Phercyles; UEDA-NAKAMURA, Tânia; FILHO, Benedito Prado Dias; SUDATTI, Daniela Bueno; BIANCO, Éverson Miguel; PEREIRA, Renato Crespo; NAKAMURA, Celso Vataru. 2010. *Effect of elatol, isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonenses**. **Marine Drugs**, v.8, no. 11, p. 2733-2743. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md8112733>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

DOS SANTOS, Alda Ernestina. Importância histórica, química e farmacológica dos alucinógenos naturais alcaloidais. **Revista Sítio Novo**, v. 5, n. 4, p. 56-67, 2021. Disponível em: < <https://sitionovo.ifto.edu.br/index.php/sitionovo/article/view/1006>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

DOS SANTOS, Thalísia C.; VALE, Thiago M.; Cavalcanti, Diana N.; Machado, Levi P.; Barbarino, Elisabete; Martins, Roberto C. C.; Obando, Johana M. C. Metabólitos bioativos e aplicações biotecnológicas de macroalgas do gênero *Sargassum*: Uma Revisão. **Revista Virtual de Química**, 2023, no prelo, 1-18. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220125>>. Acesso em: 10 abr. 2023.

ESTEVAM, Adriana Carneiro Tavares. **Avaliação de extratos de algas do filo Rhodophyta no desenvolvimento de produtos lácteos probióticos**. 2019. 138 f. Tese (Doutorado) - Centro de Biociências. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016. Disponível em:< <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/29941>>. Acesso em: 18 jan. 2023.

EYSTER, Linda S.; PECHENIK, Jan A. Attachment of *Mytilus edulis* L. larvae on algal and byssal filaments is enhanced by water agitation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 114, n. 2-3, p. 99-110, 1988.

FAGUNDES, Noele Borges Magalhães. **Avaliação do efeito anti-helmíntico do extrato bruto e metabólito elatol obtidos da alga *Laurencia dendroidea* no modelo experimental *Caenorhabditis elegans***. 2019. 107 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé - RJ. 2019.

FARIAS, Julyana da Nóbrega. **Taxonomia, perfil químico e potencial biológico no complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) do litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil**. 123p. il. Tese (Doutorado) - Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2015.

FERNANDES, Flavio da Costa; MANSUR, Maria Cristina Dreher; PEREIRA, Daniel; FERNANDES, Livia Viana de Godoy; CAMPOS, Sávio Calazans; DANELON, Olga Maria. Abordagem conceitual dos moluscos invasores nos ecossistemas límnicos brasileiros. **PEA Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle**. Porto Alegre: Redesp, p. 19-23, 2012. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/263007715_Abordagem_conceitual_dos_moluscos_invasores_nos_ecossistemas_limnicos_brasileiros> . Acesso em: 16 fev. 2023.

FERREIRA, Diana Mafalda Oliveira. **Extração de agar de algas vermelhas do gênero *Gracilaria***. 2015. 112 p. Dissertação (Mestrado em Processos químicos e biológicos) - Departamento de Engenharia Química e Biológica, Instituto Superior de Engenharia de Coimbra, Coimbra (Portugal), 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.26/12228>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

FO, RW REIS; RESGALLA JR, C. Testes de toxicidade com embriões de *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Mytilidae): avaliações de indução e sensibilidade. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 7-17, 2002.

FRANCESCHINI, Iara Maria; BURLIGA, Ana Luiza; DE REVIERS, Bruno; PRADO, João Fernando; Hamlaoui, Sahima. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Artmed Editora, 2010.

FREITAS, M.O.; VELASTIN, R. Ictiofauna associada a um cultivo de mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) norte Catarinense, sul do Brasil. *Acta Sci. Biol. Sci.*, v.32, p.31-37, 2010.

FUJII, Mutue T.; Cassano, V.; Senties, A.; Díaz-Larrea, J.; Machín-Sánchez, M.; Gil-Rodríguez, M. C. Comparative analysis of the *corps en cerise* in several species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Atlantic Ocean. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, p. 795-804, 2012.

FUJII, Mutue Toyota; SENTÍES, A. Taxonomia do complexo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) do Brasil, com ênfase nas espécies dos estados de São Paulo e do Espírito Santo. **Monografias ficológicas**, v. 2, p. 69-135, 2005.

GARRIDO, Raphael Mota; KOLB, Rosana Marta. Sustentabilidade na agricultura. **Aprendendo Ciência (ISSN 2237-8766)**, v. 10, n. 1, p. 43-46, 2021. Disponível em: < <https://seer.assis.unesp.br/index.php/aprendendociencia>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

GEPRONAS. Grupo de Estudo de Produtos Naturais e Sintéticos. Linha de Pesquisa. Produtos Naturais Marinhos. Universidade Federal de São Carlos - UFSC. Disponível em:<<https://gepronas.ufsc.br/linhas-de-pesquisa-3/produtos-naturais-marinhos/>>. Acesso em: 20 fev. 2023.

GERLING, Cynthia et al. **Manual de Ecossistemas Marinhos e Costeiros para Educadores**. Rede Biomar. Editora Comunicar, São Paulo-SP. 2016.

GODARTH, Karina. **Sesquiterpenos da alga *Laurencia dendroidea* com potencial atividade anticolinesterásica**. 2017. 129 p. il. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Produtos Bioativos e Biociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Macaé - RJ. 2017.

GOOGLE. **Google Earth Pro**. Praia Grande, Arraial do Cabo, RJ. Coordenadas: 22°97'67.22"S, 42°03'50.14"O. Disponível em: <<http://earth.google.com/>>. 2023.

GRAPHPAD Prism versão 9.0.2 para Windows. **GraphPad Software**, San Diego, California USA, 2023. Disponível em: <www.graphpad.com>. Acesso em: 16 fev. 2023.

GRESSLER, Vanessa et al. Sesquiterpenes from the essential oil of *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta): isolation, biological activities and distribution among seaweeds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 248-254, 2011.

GUARATINI, Thais. **Antioxidantes de macroalgas marinhas: caracterização química e atividade *in vitro***. 2008. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Instituto de Química, University of São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: doi:10.11606/T.46.2008.tde-02072008-130811. Acesso em: 30 mar. 2023.

GUIRY, Michael D. & GUIRY, G.M. 07 February 2022. **ALGAEBASE**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=18947>. Acesso em: 06 fev. 2023.

IANORA, A.; BENTLEY, M. G.; CALDWELL, G. S.; CASOTTI, R.; CEMBELLA, A. D.; ENGSTRÖM-ÖST, J.; PALDAVIČIENĖ, A. 2011. The relevance of marine chemical ecology to plankton and ecosystem function: an emerging field. **Marine Drugs**, 9: 16251648.

INA, Kazuo. TAKASAWA, R. YAGI, A. YAMASHITA, M. ETOH, H. SAKATA, K. An improved bioassay method for antifouling substances using the blue mussel *Mytilus edulis*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 53, n. 12, p. 3319-3321, 1989.

ITAIPU BINACIONAL. **Mexilhão dourado**. 2001. Disponível em: <<https://www.itaipu.gov.br/meioambiente/mexilhao-dourado>>. Acesso em 15 fev. 2023.

KAFARSKI, Pawel. Rainbow code of biotechnology. **Chemik**, N. 8, tom 66, pp. 811-816, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/287253802_Rainbow_code_of_biotechnology#fullTextFileContent>. Acesso em 10 jan. 2023.

KÖNIG, Gabriele M.; WRIGHT, Anthony D. *Laurencia rigida*: chemical investigations of its antifouling dichloromethane extract. **Journal of natural products**, v. 60, n. 10, p. 967-970, 1997. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np970181r#>>. Acesso em: 21 fev de 2023.

LASIAK, T. A.; BARNARD, T. C. E. Recruitment of the brown mussel *Perna perna* onto natural substrata: a refutation of the primary/secondary settlement hypothesis. **Marine Ecology Progress Series**, p. 147-153, 1995.

LEAL, Miguel C. ANAYA-ROJAS, J. M., MUNRO, M. H., BLUNT, J. W., MELIAN, C. J., CALADO, R., & LÜRIG, M. D. Fifty years of capacity building in the search for new marine natural products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 39, p. 24165-24172, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.200761011>>. Acesso em 16 fev. 2023.

LEAL, Rachel Nunes. **Localização celular de metabólitos halogenados em *Laurencia obtusa* (Cerámiales, Rhodophyta)**. 2007. 32 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói - RJ, 2007. Disponível em: <<https://app.uff.br/riuff/handle/1/22626>>. Acesso em 16 fev. 2023.

LEE, R.E. **Phycology**. 3ª ed. Cambridge University Press: Cambridge, UK. 1999.

LHULLIER, Cintia. **Investigação química de espécies do gênero *Laurencia Lamourox* na costa sul brasileira**. 2009. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012. Disponível em: <<http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/92627>>. Acesso em: 03 dez. 2022.

LINNAEUS, Carlos. **Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis**. 1758. *Editio decima, reformata, vol. 1: 824 p.* Disponível em: <<https://biodiversitylibrary.org/page/726886>>. Acesso em: 23 nov. 2022.

LOPES, A. H.; BEZERRA, D. P.; ROCHA, D. D.; COSTA, M. S. Elatol, a halogenated sesquiterpene from red seaweed *Laurencia dendroidea*, reduces inflammation and oxidative stress in a murine model of colitis. **Marine Drugs**, 19(1), 29, 2021. DOI: 10.3390/md19010029. Acesso em 20 mar 2023.

LUÍS, Ana; FERREIRA, Frederico; AZEVED, Rui. Biotecnologia marinha: um setor emergente no âmbito do Cluster do Conhecimento e Economia do Mar. **Boletim de Biotecnologia**. Série 2, nº 5. Sociedade Portuguesa de Biotecnologia. Junho 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/263734386_Biotecnologia_marinha_um_setor_emergente_no_ambito_do_Cluster_do_Conhecimento_e_Economia_do_Mar> . Acesso em: 10 nov. 2022.

MACHADO, F.L.S. **Sesquiterpenos em espécimes de algas *Laurencia dendroidea* J. Agardh: caracterização química e atividade antileishmania**. Rio de Janeiro, 2009. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

MACHADO, Fernanda L. da S. et al. Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero *Laurencia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 441-452, 2010.

MACHADO, Fernanda Lacerda da Silva. **Diversidade química e atividade farmacológica em algas da espécie *Laurencia dendroidea* J. Agardh**. 280 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2014.

MACHADO, Fernanda LS et al. Geographic Distribution of Natural Products Produced by the Red Alga *Laurencia dendroidea* J. Agardh. **Chemistry & biodiversity**, v. 13, n. 7, p. 845-851, 2016.

MANSUR, Maria Cristina Dreher; SANTOS, C. P. D.; DARRIGRAN, G.; HEYDRICH, I.; CALLIL, C. T.; CARDOSO, F. R. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, p. 75-84, 2003.

MARQUES, Hosana Cristina Moitinho. **Potencial biotecnológico de algas marinhas e dos produtos sintéticos de triazol na inibição dos efeitos tóxicos, induzidos por venenos de serpentes do gênero *Bothrops***. 2021. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, 2021. Disponível em: < <https://app.uff.br/riuff/handle/1/25768>>. Acesso em 16 fev. 2023.

MARTÍN-RODRÍGUEZ, Alberto J.; BABARRO, J.M.F.; LAHOZ, F.; SANSÓN, M.; MARTÍN, V.S.; NORTE, M.; FERNÁNDEZ, José J. From broad-spectrum biocides to quorum sensing disruptors and mussel repellents: Antifouling profile of alkyl triphenylphosphonium salts. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0123652, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123652>>. Acesso em: 02 abr. 2023.

MASUDA, Michio et al. Morphological and chemotaxonomic studies on *Laurencia composita* and *L. okamuræ* (Ceramiales, Rhodophyta). **Phycologia**, v. 35, n. 6, p. 550-562, 1996.

MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (Org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**, v. 2. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2010. v. 2. 254 p. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/8659>>. Acesso em: 20 fev de 2023.

MONTEIRO, Siomara da Cruz; BRANDELLI, Clara Lia Costa. **Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação**. Artmed Editora, 172p. 2017.

MORENO, T. R.; ROCHA, R. M. da. Ecologia de costões rochosos. **Estudos de Biologia**, [S. l.], v. 34, n. 83, 2012. DOI: 10.7213/estud.biol.7332. Disponível em: <<https://periodicos.pucpr.br/estudosdebiologia/article/view/22921>>. Acesso em: 23 jan. 2023.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6606682/>>. Acesso em: 20 fev 2023.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>>. Acesso em 16 fev. 2023.

OECD. Environment Health and Safety Publications. Environment, Health and Safety Publications. **Series on Testing and Assessment**. n. 121, 182 p., 2010. Disponível em: <<https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm>>. Acesso em 12 dez de 2022.

OLIVEIRA, Ellen Aparecida De Souza. **Avaliação da diversidade química e do potencial biotecnológico de algas calcárias geniculadas**. 2022, 69 f. Tese (Doutorado) – Programa Associado de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha, Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e Universidade Federal Fluminense – IEAPM/UFF, Arraial do Cabo, RJ. 2022.

OLIVEIRA, Deloar Duda de. **O CONAMA e os poluentes emergentes: um estudo de caso sobre a Resolução 357 e os anti-incrustantes marinhos**. 2019. 186 f. Tese (Doutorado em Meio Ambiente) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU, Convenção sobre Diversidade Biológica, 1992. **Protocolo de Nagoia no âmbito da Convenção da Diversidade Biológica sobre acesso a recursos genéticos e a repartição justa e equitativa de benefícios decorrentes de sua utilização.** Disponível em: <http://portal.iphan.gov.br/uploads/ckfinder/arquivos/Protocolo_de_nagoia.pdf> consulta em 16 fev 2023.

OTA, Ana Carolina Mayumi. **Revisão Sistemática Da Literatura Do Potencial De Aplicação Biotecnológica Das Algas.** 2021. 72 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia). Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu - PR, 2021. Disponível em: <<http://dspace.unila.edu.br/123456789/6347>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

PANINI, ROSEANE LUCIA. **Caracterização morfológica, extração e identificação das proteínas do pé do mexilhão *Perna perna* responsáveis pela formação do bisso /** Roseane Lucia Panini; orientador, Luiz Henrique Beirão – Florianópolis, SC,. 85 p. 2013.

PARADAS, Wladimir C. SALGADO, Leonardo T. ; SUDATTI, Daniela B. ; CRAPEZ, Mírian A.; FUJII, Mutue T.; COUTINHO, Ricardo ; PEREIRA, Renato C. ; AMADO FILHO, Gilberto M. Induction of halogenated vesicle transport in cells of the red seaweed *Laurencia obtusa*. **Biofouling**, v. 26, n. 3, p. 277-286, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927010903515122>. Acesso em: 16 abr. 2023.

PEREIRA, Renato Crespo. Ecologia química marinha. *In*: PEREIRA, Renato Crespo; SOARES-GOMES, Abílio. **Biologia Marinha**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2009, p. 473-504.

PEREIRA, Renato Crespo. Macroalgas e Terpenóides Marinhos *In*: THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Editora FURG, 2020. p.449-463.

PEREIRA, Renato Crespo; DA GAMA, Bernardo Antônio Perez; TEIXEIRA Valéria L, YONESHIGUE VALENTIN Y. Ecological roles of natural products of the Brazilian red seaweed *Laurencia obtusa*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 665-672, 2003. Disponível em:< <https://doi.org/10.1590/S1519-69842003000400013>>. Acesso em: 8 dez. 2022.

PEREIRA, Renato Crespo; DE OLIVEIRA, Aline Santos; SUDATTI, Daniela Bueno. Ecologia química marinha: origem, evolução e perspectivas no Brasil. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 2, p. 412-435, 2011.

PEREIRA, Renato Crespo; PARADAS, WC; DE CARVALHO, RT; DE LIMA MOREIRA D; KELECOM A; PASSOS RMF; ATELLA GC; SALGADO, LT. Chemical defense against herbivory in the brown marine macroalga *Padina gymnospora* could be attributed to a new hydrocarbon compound. **Plants**, v. 12, n. 5, p. 1073, 2023. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/plants12051073>>. Acesso em 30 mar. 2023.

PEREIRA, Renato Crespo; SOARES-GOMES, Abílio. **Biologia Marinha**. 2ª Edição. Editora Interciência, Rio de Janeiro. 631p, 2009.

PETERSEN, James H. Larval settlement behavior in competing species: *Mytilus californianus* Conrad and *M. edulis* L. **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 82, n. 2-3, p. 147-159, 1984.

PIERRI, B.S., FOSSARI, T.D. e MAGALHÃES, A.R.M. O mexilhão *Perna perna* no Brasil: nativo ou exótico? **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**. 2016, v. 68, n. 2, pp. 404-414. ISSN 1678-4162. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-8534>>. Acesso em: 8 dez. 2022.

PINTO, Angelo C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

PINTO, Jailson Mauricio; DA SILVA, Marcelo Barreto; CASSINI, Sérgio Túlio. Políticas públicas no Brasil: desafios, potencialidades e oportunidades no contexto da biotecnologia ambiental. **Agrariae Liber**, v. 4, n. 1, p. 19-27, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.6008/CBPC2674-6476.2022.001.0002>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

RÉ, Pedro. Ecologia Marinha. **Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa**, University of Lisboa, v. 64, 2005.

RIBEIRO, T. G.; SILVA, L. L.; HIGA, A. K.; ROCHA, D. D.; BEZERRA, D. P.; BENEVIDES, N. M. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase activity by elatol isolated from the red seaweed *Laurencia dendroidea*. **Journal of Applied Phycology**, 33, 385-394, 2021. DOI: 10.1007/s10811-020-02357-8 . Acesso em 20 mar 2023.

ROJAS, Erika Guisande. **Subsídios para gestão ambiental dos impactos das tintas anti-incrustantes no Brasil**. 2019. 186 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (Unesp), São Vicente – SP, 2019.

ROSSEAU, F.; GEY, D.; KURINARA, A.; MAGGS, C.A.; MARTINLESCANNE, J.; PAYRI, C.; REVIERS, B.; SHERWOOD, A.; LE GALL, L. Molecular phylogenies support taxonomic revision of three species of *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta), with the description of a new genus. **European Journal of taxonomy**, v. 269, p. 1-19, 2017.

SALMAZO, Julia R. et al. Costões rochosos: muito mais que um amontoado de rochas. **Revista Biologia Marinha de Divulgação Científica v. 1 n. 1 jan./jun. 2018**, p. 30, 2018. Disponível em: < <https://www.bioicos.org.br/revistabiologiamarinha>>. Acesso em: 23 jan. 2023.

SALOMON, Paulo Sergio; FISTAROL, Giovana de Oliveira. Ácidos graxos e pigmentos *In*: THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Editora FURG, 2020. p.43-65.

SALVADOR-NETO, Orlando et al. Larvicidal potential of the halogenated sesquiterpene (+)-obtusol, isolated from the alga *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Ceramiales: Rhodomelaceae), against the Dengue vector mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus)(Diptera: Culicidae). **Marine drugs**, v. 14, n. 2, p. 20, 2016. Disponível em:<<https://www.mdpi.com/1660-3397/14/2/20>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SANTOS, Janaína Pires; COSTA, Emmanuelle Silva. Ficocolóides: Polissacarídeos das algas marinhas. **BOTÂNICA NO INVERNO**, p. 132, 2013.

SERAFIM, J. P.; BEZERRA, D. P.; FERREIRA, V. F. The role of elatol, a halogenated sesquiterpene alcohol from red seaweed, as a potential antitumor drug candidate: A review of recent advances. **Frontiers in Oncology**, 11, 637239. 2021. DOI: 10.3389/fonc.2021.637239. Acesso em 20 mar. 2022.

SILVA, J. S. V.; SOUZA, R. C. C. L. **Água de lastro e Bioinvasão**. Rio de Janeiro: Interciência, 2004. 224p.

SIMS, James J.; LIN, George HY; WING, Richard M. Marine natural products X elatol, a halogenated sesquiterpene alcohol from the red alga *Laurencia elata*. **Tetrahedron Letters**, v. 15, n. 39, p. 3487-3490, 1974.

STEIN, Erika Mattos. **Avaliação das atividades biológicas e composição química dos extratos de algas vermelhas do gênero *Laurencia* (Rhodomelaceae, Ceramiales) do litoral do Espírito Santo, Brasil**. 167p. 2011. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, departamento de Botânica, Universidade de São Paulo - USP. São Paulo, 2011. Disponível em: < 10.11606/D.41.2011.tde-21092011-155134>. Acesso em 30 jan. 2022.

SUDATTI, D. B., RODRIGUES, S. V., COUTINHO, R., DA GAMA, B. A., SALGADO, L. T., AMADO FILHO, G. M., & PEREIRA, R. C. Transport and defensive role of elatol at the surface of the red seaweed *Laurencia obtusa* (Ceramiales, Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 44, n. 3, p. 584-591, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00507.x>>. Acesso em: 16 abr. 2023.

TEIXEIRA, Valéria L. Produtos naturais de algas marinhas bentônicas. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 343-362, 2013. Disponível em:< <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/346>>. Acesso em 24 fev 2023.

THOMPSON, F.; KRÜGER, R.; THOMPSON, C.C.; BERLINCK, R.G.S.; COUTINHO, R.; LANDELL, M.F.; PAVÃO, M.; MOURÃO, P.A.S.; SALLES, A.; NEGRI, N.; LOPES, F.A.C.; FREIRE, V.; MACEDO, A.J.; MARASCHIN, M.; PÉREZ, C.D.; PEREIRA, R.C.; RADIS-BAPTISTA, G.; REZENDE, R.P.; VALENTI, W.C.; ABREU, P.C., and BIOTECMAR NETWORK. Marine biotechnology in Brazil: recent developments and its potential for innovation. **Frontiers in Marine Science**, v. 5, p. 236, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00236>>. Acesso em 03 fev. 2023.

THOMPSON, Fabiano; THOMPSON, Cristiane. **Biotecnologia Marinha**. Rio Grande: Editora FURG, 855 p. il. 2020.

VEIGA, Carla Carvalho da. **Da invenção à inovação: um processo de desenvolvimento de produtos sustentáveis para biotecnologia marinha**. 2019. 321p. Tese (Doutorado) – Programa de Engenharia de Produção, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/11422/13260>>. Acesso em 16 fev. 2023.

VIEGAS JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

VILELA, J. D. Mummification and medicine in ancient Egypt. **Revista Paulista de Medicina**, v. 89, n. 5-6, p. 115-124, 1977.

WANKE, Tauana. **Investigação química de *Laurencia catarinensis* da Ilha do Xavier (Santa Catarina)**. 2018. 214 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/211024>>. Acesso em: 20 jan. 2023.

WANKE, Tauana. **Isolamento de metabólitos halogenados de *Laurencia catarinensis* e *Laurencia dendroidea* de Santa Catarina, Brasil**. 2014. 155 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em:<<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/123365>>. Acesso em: 20 jan. 2023.

YONSESHIGUE-VALENTIN, Yocie Yoneshigue. Macroalgas marinhas e biotecnologia, companheiras inseparáveis. **Anais da 62ª Reunião Anual da SBPC, Natal, RN, 2010**.