



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

ANA POLYCARPA DE ALMEIDA MARINHO CARVALHO

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MACROALGAS
MARINHAS

ARRAIAL DO CABO/RJ

2022

ANA POLYCARPA DE ALMEIDA MARINHO CARVALHO

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MACROALGAS
MARINHAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e à Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia Marinha.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Coutinho

Coorientadoras: Prof. Dra. Louisi Souza de Oliveira

Prof. Dra. Daniela Batista

ARRAIAL DO CABO/RJ

2022

C331n Carvalho, Ana Polycarpa de Almeida Marinho
Potencial biotecnológico de bactérias cultiváveis isoladas de
macroalgas marinhas / Ana Polycarpa de Almeida Marinho Carvalho. --
Arraial do Cabo: Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira, 2022.

58 f.

Orientador: Ricardo Coutinho.

Coorientador: Louisi Souza de Oliveira.

Coorientador: Daniela Batista.

Tese (Doutorado) – 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, 2022.

1. Antibacteriano. 2. Antibiótico. 3. Bactéria associada 4. Macroalgas.
I. Coutinho, Ricardo. II. Oliveira, Louisi Souza. III. Batista, Daniela
IV. Título.

CDD:660.6

ANA POLYCARPA DE ALMEIDA MARINHO CARVALHO

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MACROALGAS
MARINHAS**

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

COMISSÃO JULGADORA:

Dr. Ricardo Coutinho

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)
Professor Orientador – Presidente da Banca Examinadora

Dra. Marinella Silva Laport

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Dra. Nair Sumie Yokoya

Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA)

Dra. Maria Helena Campos Baeta Neves

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)

Dra. Caroline Rezende Guerra

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)

Dra. Giselle Pinto de Farias Lopes

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)

Dr. Lohengrin Dias de Almeida Fernandes

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)
(Suplente)

Arraial do Cabo, 26 de agosto de 2022.

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente a Deus, por me permitir concluir mais essa etapa da minha vida. Muitas foram as dificuldades enfrentadas, e chegar até aqui me faz acreditar que nada é impossível aquele que crer.

Ao meu orientador, Dr. Ricardo Coutinho, pela oportunidade concedida, pelos ensinamentos, incentivos e confiança depositada em mim ao longo desses anos.

As minhas coorientadoras maravilhosas Daniela Batista e Louisi Oliveira. A Dani agradeço por estar presente na minha vida acadêmica desde que cheguei ao IEAPM, gratidão por todo companheirismo, pelos ensinamentos do que um pesquisador precisa saber, desde campo, análise de dados e escrita. Sem sua contribuição eu não teria conseguido. A Louisi agradeço por ter aceitado me orientar “nos 45 do segundo tempo”. Nesse pouco tempo de convivência aprendi tanto que nem sei mensurar. Obrigada por me apresentar a biologia molecular de perto e me fazer apaixonar por ela.

A professora Dra. Marinella Laport, por me receber em seu laboratório, por me ensinar as técnicas de isolamento, pelo tempo dispensado a mim durante os primeiros passos desse trabalho.

A Tenente Dra. Caroline Guerra, pela ajuda com a parte de identificação molecular das bactérias, gratidão pelo conhecimento compartilhado.

Aos meus colegas de pós-graduação, Ellen, Kiani e Priscila, pela força, troca de ideias e desabafos. Ao Nicollas Menezes pela ajuda com o bibliometrix. A Juliana Ferrari por me dar abrigo em Niterói quando precisei fazer disciplinas. Ao Diego Seda, Silvia, Thiago Matos, Patrícia Albuquerque, João Laudares, Camila, Lucas Paes, Isa, Isabel, Nono, Sara e muitos outros, pelas trocas de ideias, experiências compartilhadas e por toda ajuda.

A minha família, em especial meus pais Celia e Geraldo. Obrigada por sempre me estimularem a estudar, por me mostrarem que o conhecimento e a educação mudam vidas. Obrigada pelas orações, pelo amor e valores ensinados e pela compressão da minha ausência em alguns momentos.

Ao meu esposo Julio, por me incentivar e encorajar a embarcar nesse doutorado. Agradeço por acreditar em mim mais do que eu mesmo. E também por todo apoio emocional, pela parceria e compreensão que só quem passou por esse processo sabe o que significa.

As minhas amigas de vida, Dayana e Janini, pela torcida, apoio emocional e por se interessarem pelo andamento do trabalho mesmo não sendo da área.

A minha amiga Rafaela Costa, uma irmã de coração que o IEAPM me deu. Gratidão por toda ajuda mesmo de longe, pelas trocas de experiências, por ouvir meus desabafos, pelos conselhos, pelo carinho e preocupação. Obrigada também por me abrigar em sua casa quando tinha disciplina ou experimento no Rio de Janeiro.

A todos os colegas do grupo BIOTECMAR, Glauce, Tenentes Tailah e Laura, Kassuga, as Lucianas, Zé bola, Gisele, Marcio, Mauricio, Sávio, Lohengrin, Julhão, Jurema, Fernanda Sivieiro e tantos outros que tive o prazer de conhecer e conviver durante todos esses anos. Gratidão pela amizade e por contribuírem de alguma forma para a realização deste trabalho.

A Dra Maria Helena, pelos conselhos, pelo apoio, pelos ensinamentos e pela preocupação. Obrigada pelo carinho dedicado a mim.

Aos professores que participaram da banca examinadora de qualificação, e também aos da banca de defesa, obrigada desde já pelas contribuições.

Ao programa de pós-graduação em Biotecnologia Marinha e aos professores a ele vinculados, pela oportunidade e pelo ensino de qualidade.

Ao CNPq pela concessão da bolsa e auxílio financeiro para o desenvolvimento deste estudo.

ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O PROGRAMA DE DOUTORADO

Batista, D., Costa, R., Carvalho, A. P., Batista, W. R., Rua, C. P., de Oliveira, L., ... & Dobretsov, S. (2018). **Environmental conditions affect activity and associated microorganisms of marine sponges.** *Marine environmental research*, 142, 59-68.

Walter, J. M., de Oliveira, L. S., Tschoeke, D. A., Meirelles, P. M., Neves, M. H. C. B., Batista, D., Carvalho, A. P., Costa, R. S., Dobretsov, S., Coutinho, R., Swing, J., Thompson, C. C., Thompson, F. L. (2021). **Metagenomic Insights Into Ecosystem Function in the Microbial Mats of a Large Hypersaline Coastal Lagoon System.** *Frontiers in Marine Science*, 1089.

ARTIGOS EM PREPARAÇÃO

Carvalho, A. P., de Oliveira, L. S., Batista, D., Guerra, C., Laport, M., Coutinho, R. Seaweed-associated cultivable bacteria from Arraial do Cabo and their potential as producers of antimicrobial substances. Em preparação 2022.

Carvalho, A. P., de Oliveira, L. S., Batista, D., Coutinho, R. Macroalgal-associated bacteria with antibacterial activity: a systematic review. Em preparação 2022.

RESUMO

As bactérias associadas às macroalgas são produtoras de diversas substâncias com potencial biotecnológico. Entretanto, até o momento, nenhum estudo avaliou a atividade antibiótica de bactérias associadas às macroalgas de Arraial do Cabo, RJ. O objetivo geral foi estudar a atividade antibacteriana de bactérias associadas às macroalgas marinhas. O presente trabalho foi dividido em três capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma introdução geral, que corresponde ao referencial teórico. No segundo capítulo foi avaliada a atividade antibiótica de bactérias associadas a macroalgas marinhas do município de Arraial do Cabo. Para isso, quatro diferentes espécies de macroalgas (*Sargassum vulgare*, *Colpomenia sinuosa*, *Pterocladia capillacea* e *Ulva* sp.) foram utilizadas. Após o isolamento das estirpes, foi avaliada a atividade antibacteriana contra dez cepas indicadoras (bactérias incrustantes e patogênicas do ambiente marinho ou de interesse médico). As estirpes mais ativas foram identificadas a partir do gene codificador do RNAr 16S. No total, 61 estirpes foram isoladas das quatro macroalgas coletadas, onde 52 se mantiveram viáveis, das quais 58 % apresentaram ação antibiótica contra pelo menos uma das estirpes indicadoras testadas. As bactérias mais ativas foram identificadas como bacilos Gram-negativos do gênero *Vibrio* e cocos Gram-positivos do gênero *Enterococcus*. No terceiro capítulo, foi realizada uma revisão sistemática, com o objetivo de sintetizar a literatura sobre bactérias associadas às macroalgas e à produção de substâncias com atividade antibacteriana, além de destacar lacunas de conhecimento sobre o tema e recomendar caminhos para pesquisas futuras. Três bancos de dados foram utilizados, Scopus, Web of Science e Pubmed. No total, 73 artigos foram incluídos e analisados. Os filos bacterianos produtores de substâncias antibacterianas mais ativas encontrados associadas às macroalgas foram *Proteobacteria*, seguido de *Firmicutes* e *Actinobacteria*. Entretanto, apenas 33 % desses trabalhos identificaram os compostos produzidos pelas bactérias. Aqueles que identificaram, encontraram os policetídeos como a classe de compostos mais abundante. Nossos resultados evidenciam que as bactérias associadas às macroalgas apresentam um enorme potencial biotecnológico e são importantes fontes de obtenção de novas substâncias bioativas.

Palavras-chave: antibacteriano, antibiótico, bactéria associada, macroalgas.

ABSTRACT

Bacteria associated with macroalgae are producers of several substances with biotechnological potential. However, to date, no study has evaluated the antibiotic activity of bacteria associated with macroalgae from Arraial do Cabo. The general objective was to study the antibacterial activity of bacteria associated with marine macroalgae. This work was divided into three chapters. The first chapter presents a general introduction, which corresponds to the theoretical framework. In the second chapter, the antibiotic activity of bacteria associated with marine macroalgae from Arraial do Cabo city was evaluated. For this, four different species of macroalgae were used (*Sargassum vulgare*, *Colpomenia sinuosa*, *Pterocladia capillacea* and *Ulva* sp.). After the isolation of the strains, the antibacterial activity against ten indicator strains (fouling and pathogenic bacteria from the marine environment or of medical interest) was evaluated. The most active strains were identified from the 16S rRNA gene. In total, 61 strains were isolated from the four macroalgae collected, where 52 remained viable, of which 58 % showed antibiotic action against at least one of the indicator strains tested. The most active bacteria were identified as Gram-negative bacilli of the genus *Vibrio* and Gram-positive cocci of the genus *Enterococcus*. In the third chapter, a systematic review was carried out, with the objective of synthesizing the literature on bacteria associated with macroalgae and the production of substances with antibacterial activity, in addition to highlighting knowledge gaps on the subject and recommending paths for future research. Three databases were used, Scopus, Web of Science and Pubmed. In total, 73 articles were included and analyzed. The bacterial phyla that produced the most active antibacterial substances found associated with macroalgae were *Proteobacteria*, followed by *Firmicutes* and *Actinobacteria*. However, only 33 % of these studies identified the compounds produced by the bacteria. Those who identified found polyketides to be the most abundant class of compounds. Our results show that bacteria associated with macroalgae have an enormous biotechnological potential and are important sources for obtaining new bioactive substances.

Keywords: antibacterial, antibiotic, associated bacteria, macroalgae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Micrografia eletrônica de varredura da superfície da macroalga marrom <i>Saccharina latissima</i> . Bactérias em forma de: (a) Bastão em porções mais antigas do talo; (b) Cocos, bastonetes e espirilos em partes jovens do talo e (c) Cocos aglomerados no rizóide.	14
Figura 2: Interações positivas e negativas entre bactérias e macroalgas.	15
Figura 3: Representação esquemática do processo de bioincrustação.	22
Figura 4 - Formação do biofilme em <i>Pseudomonas</i> . (a) Com o aumento da população celular, a produção da molécula sinalizadora homoserina lactona, AHL (do inglês, acyl homoserine lactones), e do c-di-GMP se intensifica. Essas moléculas sinalizadoras participam da ativação da síntese de exopolissacarídeos e do flagelo, necessária para a formação do biofilme. (b) Microscopia confocal de varredura mostrando a progressão da formação do biofilme de <i>P. aeruginosa</i> no período de 144 horas.	23
Figura 5 - Mecanismo do Quorum Sensing desempenhado pelas bactérias.	24
Figura 6 - Locais de amostragem para a coleta de espécies de macroalgas de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil.	51
Figura 7 - Coleta das macroalgas no costão rochoso da Praia Grande, Arraial do Cabo/RJ, em junho de 2018.	52
Figura 8: Diluição seriada feita a partir dos macerados de macroalgas.	53
Figura 9 - Bactérias estriadas em meio de cultura para obtenção de culturas puras.	54
Figura 10: Esquema do experimento de atividade antibacteriana das estirpes isoladas das macroalgas.	55
Figura 11: Esquema do protocolo de coloração de Gram.	57
Figura 12 - Porcentagem de bactérias isoladas de cada espécie de macroalga utilizada neste estudo.	60

Figura 13 - Teste de sobreposição das cepas isoladas de <i>Ulva</i> sp contra <i>S. aureus</i> . As zonas de inibição, zonas claras exibidas ao redor dos isolados bacterianos, indicam a atividade antibacteriana.	62
Figura 14 - Placas de culturas de amostras antes e durante o isolamento, mostrando a formação de swarming por algumas colônias.	65
Figura 15 - Morfologias e colorações de Gram de células bacterianas, observações feitas ao microscópio óptico (aumento de 1.000X). (A) bactérias Gram-positivas (cocos); (B) bactérias Gram-negativas (bacilos).	66
Figura 16 - Árvore filogenética montada com base nas sequências de RNAr 16S das linhagens de bactérias isoladas de macroalgas comparadas às sequências de linhagens tipo. Filogenia construída pelo método Neighbor-Joining e distância evolucionária definida pelo modelo Kimura 2- parâmetros. Posições ambíguas foram retiradas para cada par de sequências (opção par a par). O conjunto de dados final conteve um total de 831 posições. Bootstrap expressos em porcentagem com 1000 repetições, sendo apresentados apenas os valores acima de 60 %. Barra de divergência estimada em 5 %. <i>Escherichia coli</i> foi usada como grupo externo.	68
Figura 17: Resumo da inclusão e triagem de artigos seguindo a abordagem PRISMA (Moher <i>et al.</i> , 2009). *189 artigos eliminados com base no título e resumo por não se enquadrarem nos critérios de inclusão.	84
Figura 18: Produção científica global sobre atividade antimicrobiana de bactérias associadas às macroalgas. A intensidade da cor azul é proporcional à quantidade de publicações da área.	85
Figura 19: Distribuição dos estudos de acordo com o filo de macroalga utilizado. ...	86
Figura 20: Filos de bactérias encontrados associados aos três filios de macroalgas.	87
Figura 21: Classes de compostos produzidos pelos filios de bactérias encontrados nos estudos analisados nesta revisão.	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de ação anti-incrustante das bactérias associadas a macroalgas.	18
Tabela 2 – Potencial antibacteriano de bactérias associadas a diversas espécies de macroalgas.....	29
Tabela 3 - Resumo do perfil de atividade antibacteriana das estirpes associadas a quatro espécies de macroalgas. *Estirpes exibindo atividade antibacteriana contra quatro ou mais linhagens de bactérias indicadoras.....	61
Tabela 4 - Efeito antibacteriano de bactérias isoladas de macroalgas contra as cepas indicadoras testadas. (-) nenhuma atividade, (+) zona de inibição de até 2 mm, (++) zona de inibição de 3–4 mm, (+++) zona de inibição > 4 mm. As estirpes destacadas em verde foram selecionadas para a caracterização molecular. SAR = <i>Sargassum vulgare</i> , COL = <i>Colpomenia sinuosa</i> , PTE = <i>Pterocladia capillacea</i> , ULV = <i>Ulva</i> sp., BHI = <i>Brain Heart Infusion</i>	63
Tabela 5 - Caracterização fenotípica das estirpes isoladas de macroalgas selecionadas pelo teste de atividade antibacteriana.	65
Tabela 6 - Lista das estirpes obtidas usando uma identidade de sequência de RNAr 16S (%) para a cepa tipo mais próxima.	67
Tabela 7 - Atividade anti-incrustante de bactérias associadas a macroalgas.	90
Tabela 8 - Atividade de bactérias associadas a macroalgas contra bactérias de interesse na aquacultura.	92

SUMÁRIO

CAPITULO 1: INTRODUÇÃO GERAL.....	13
1.1 MACROALGAS.....	13
1.2 INTERAÇÕES ENTRE MACROALGAS E BACTÉRIAS.....	14
1.3 MECANISMOS DE DEFESA DAS MACROALGAS	20
1.4 BIOINCRUSTAÇÃO E BIOTECNOLOGIA	21
1.5 PRODUÇÃO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS POR BACTÉRIAS.....	25
1.6 BACTÉRIAS PATOGÊNICAS	33
1.6.1 Bactérias patogênicas aos seres humanos.....	33
1.6.2 Bactérias patogênicas de ambientes marinhos	34
1.7 OBJETIVOS	35
1.7.1 Objetivo Geral	35
1.7.2 Objetivos Específicos.....	35
1.8 HIPÓTESE.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
CAPITULO 2: POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MACROALGAS MARINHAS DO MUNICÍPIO DE ARRAIAL DO CABO – RJ.....	48
2.1. INTRODUÇÃO	48
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS	50
2.2.1. Coleta de macroalgas e isolamento das bactérias	50
2.2.2. Atividade antibacteriana	54
2.2.3. Caracterização fenotípica das estirpes com atividade antibacteriana	56
2.2.4. Identificação molecular das estirpes com atividade antibacteriana.....	57
2.2.5. Análise filogenética do Gene RNA Ribossomal 16s	59
2.3. RESULTADOS.....	60
2.3.1. Isolamento das bactérias	60
2.3.2. Atividade antibacteriana	61
2.3.3. Caracterização fenotípica das estirpes com atividade antibacteriana	64
2.3.4. Identificação molecular das estirpes com atividade antibacteriana.....	66
2.3.5. Análise filogenética do gene RNA ribossomal 16s	67
2.4. DISCUSSÃO	68
2.5. CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
CAPITULO 3: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS ÀS MACROALGAS MARINHAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	81

3.1. INTRODUÇÃO	81
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS	83
3.2.1. Parâmetros da pesquisa bibliográfica	83
3.2.2. Processo de seleção dos artigos	83
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
3.3.1. Atividade anti-incrustante	89
3.3.2. Atividade contra bactérias patogênicas de relevância para a agricultura	91
3.3.3. Atividade contra bactérias patogênicas de relevância para a aquicultura	92
3.3.4. Atividade contra patógenos humanos	93
3.3.5. Recomendações para Estudos futuros	94
3.4. CONCLUSÃO	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115

CAPITULO 1: INTRODUÇÃO GERAL

1.1 MACROALGAS

Macroalgas são organismos multicelulares e fotossintetizantes com grande representatividade nos ecossistemas marinhos. São importantes por contribuírem na produtividade primária e na estrutura física do local (LANARI; COUTINHO, 2014). Promovem abrigo e proteção para os estágios iniciais de vida e desenvolvimento de diversos invertebrados (HINOJOSA *et al.*, 2015), além de servirem de alimento para diversas espécies de organismos marinhos (FRASCHETTI *et al.*, 2006; POORE *et al.*, 2014). As macroalgas possuem vasta distribuição ao redor do mundo e podem ser encontradas em praticamente todas as latitudes (KEITH; KERSWELL; CONNOLLY, 2014). No Brasil, a estimativa é que há cerca de 909 espécies de macroalgas distribuídas por toda a costa, sendo 581 Rhodophyta, 220 Chlorophyta e 108 Phaeophyta – M.T. Fujii, comunicação pessoal.

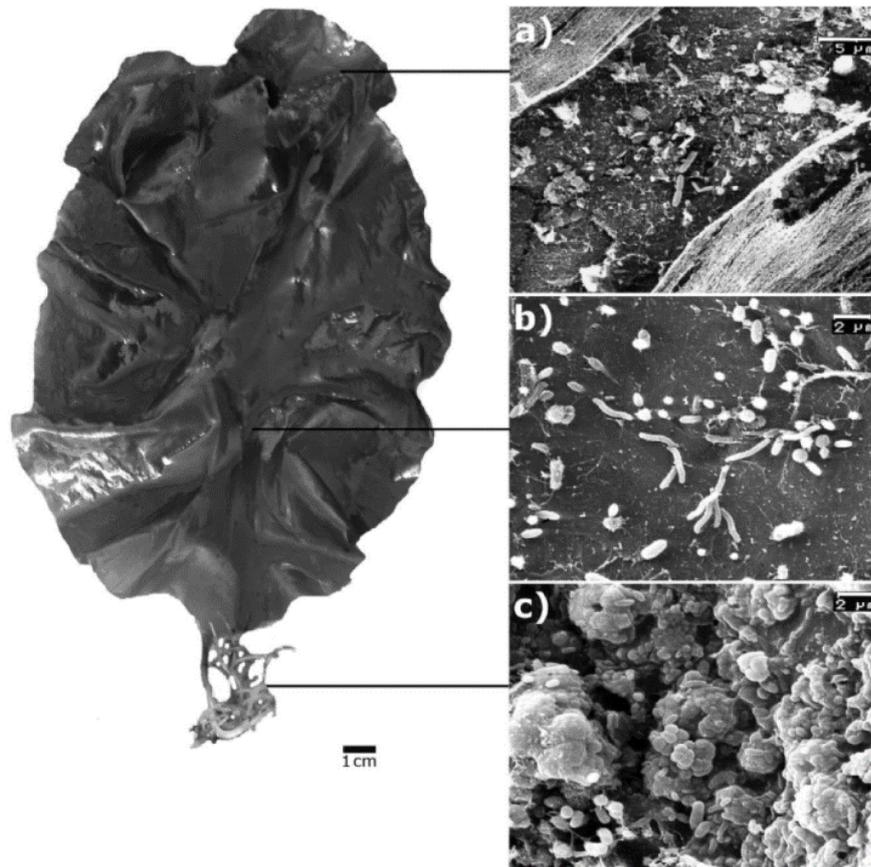
As macroalgas são consideradas organismos talófitos, ou seja, não são vascularizados com condução de seiva e por isso não apresentam raízes, caules e folhas, mas sim rizoides, cauloides e filoides. Elas são classificadas de acordo com os pigmentos presentes em seus talos como verdes (Filo Chlorophyta), vermelhas (Filo Rhodophyta) ou pardas (Filo Ochrophyta), como resultado da combinação dos pigmentos fotossintetizantes contidos em seus plastos (clorofilas e pigmentos acessórios, como carotenóides e ficobilinas que mascaram a cor verde das clorofilas) (LEE, 2008).

Espécies de macroalgas com potencial biotecnológico estão sendo cultivadas ao longo dos últimos anos no nordeste brasileiro, em razão do clima, topografia e condições ambientais favoráveis. Essas espécies se destacam pela produção de ágar e carragenina utilizados na indústria de emulsificante (MARINHO-SORIANO, 2017; SIMIONI; HAYASHI; OLIVEIRA, 2019). Além disso, as macroalgas têm se destacado nesse contexto comercial, também no mercado de comida asiática e na produção de biocombustíveis (GAO *et al.*, 2020).

As superfícies das macroalgas são revestidas por uma camada orgânica (mucilagem), devido à adsorção de moléculas ricas em carbono orgânico, oxigênio e nutrientes, que fornece um substrato adequado para o estabelecimento de

microrganismos como bactérias, fungos e diatomáceas (BENGTSSON *et al.*, 2011; LAGE; GRAÇA, 2016) (Figura 1).

Figura 1- Micrografia eletrônica de varredura da superfície da macroalga marrom *Saccharina latissima*. Bactérias em forma de: (a) Bastão em porções mais antigas do talo; (b) Cocos, bastonetes e espirilos em partes jovens do talo e (c) Cocos aglomerados no rizóide.



Fonte: GOECKE *et al.* (2010).

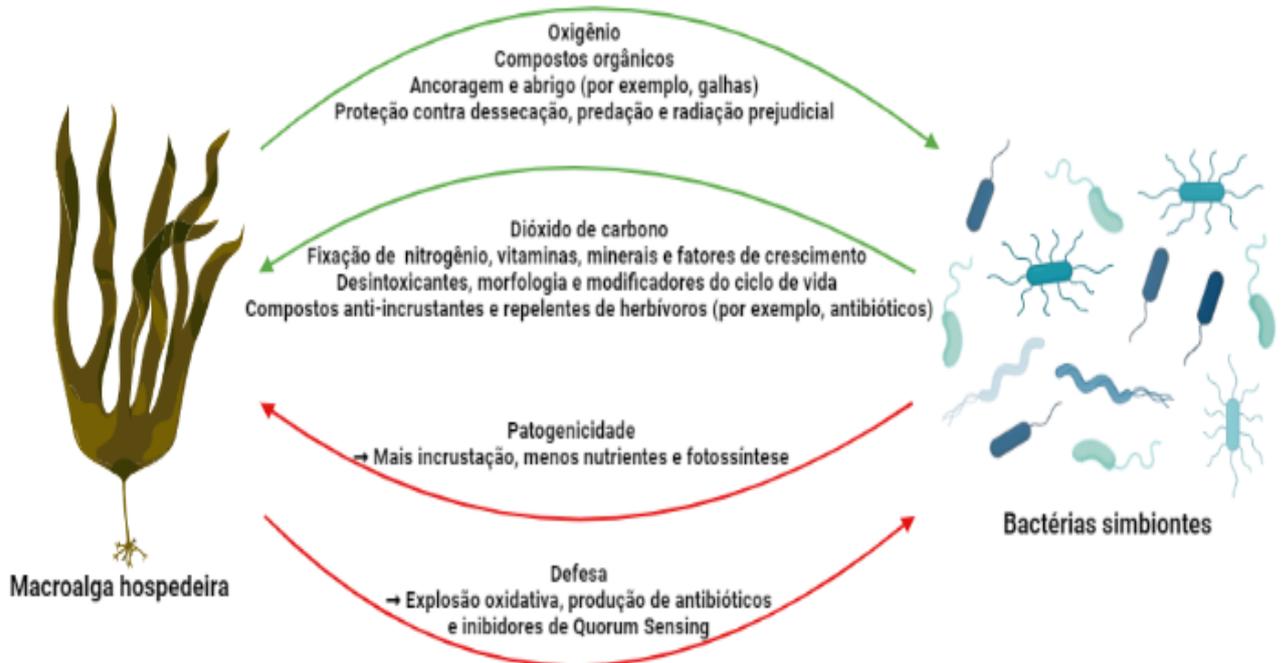
1.2 INTERAÇÕES ENTRE MACROALGAS E BACTÉRIAS

As interações hospedeiro-microrganismos desempenham um papel crucial nos ecossistemas marinhos, onde os organismos de maior tamanho são considerados o hospedeiro (DITTAMI *et al.*, 2021). O hospedeiro e toda a sua microbiota associada são conhecidos como holobionte (EGAN *et al.*, 2013; HOLLANTS *et al.*, 2013; DA GAMA; PLOUGUERNÉ; PEREIRA, 2014). O termo holobionte pode ser definido como associações simbióticas que duram uma parte significativa da vida de um organismo (ABDUL MALIK *et al.*, 2020).

As interações macroalgas-bactérias são extremamente diversas, e a microbiota pode ser favorável ou prejudicial ao funcionamento do hospedeiro. As relações

simbióticas variam de mutualismo a comensalismo e parasitismo (EGAN *et al.*, 2013; RAMANAN *et al.*, 2016) (Figura 2).

Figura 2: Interações positivas e negativas entre bactérias e macroalgas.



Adaptado de HOLLANTS *et al.* (2013).

De fato, muitas bactérias são conhecidas por afetar negativamente as algas estabelecendo uma relação de parasitismo (FERNANDES *et al.*, 2011; EGAN *et al.*, 2013). Bactérias apresentam potencial para degradar as paredes celulares das macroalgas, causando danos ao tecido, o que favorece a entrada de bactérias patogênicas e oportunistas, contribuindo para a desintegração do tecido algal infectado e levando à ruptura do talo (YAMASAKI; MIYAZAKI; KAMEI, 1998; GOECKE *et al.*, 2010). Como exemplo, espécies de *Vibrio* são relatadas como patógenos oportunistas de *Porphyra* e *Laminaria* (WANG *et al.*, 2008). Entretanto, devido ao fato da patogenicidade ser frequentemente associada à degradação da parede celular, é difícil distinguir os verdadeiros patógenos dos saprofíticos epífitos (WEINBERGER; FRIEDLANDER, 2000). O hospedeiro também pode ser danificado diretamente pela comunidade bacteriana devido à produção de toxinas, hidrolases e produtos residuais (WEINBERGER; HOPPE; FRIEDLANDER, 1997; PATEL *et al.*, 2003; RAO; WEBB; KJELLEBERG, 2006;).

A colonização por bactérias pode diminuir também a taxa de fotossíntese, a troca de nutrientes e a taxa de crescimento (IVANOVA *et al.*, 2002, 2004; CAMPBELL *et al.*, 2011). Além disso, a colonização de bactérias no talo das macroalgas constitui uma ameaça permanente, pois aumentam a fixação de outros organismos incrustantes, como outras espécies de macroalgas (epífitas) e invertebrados marinhos, e herbívoros (EGAN *et al.*, 2013). E a colonização desses macroorganismos na superfície da macroalga pode trazer danos, como causar sombreamento, trazer risco de quebra do talo e diminuir a taxa de crescimento (MUÑOZ; FOTEDAR, 2010).

Em contraste, algumas espécies de bactérias epífitas têm uma relação positiva com seu hospedeiro. Algumas macroalgas dependem dos seus microssimbiontes para fornecer moléculas essenciais (como vitaminas e outros nutrientes) que elas mesmas são incapazes de produzir. Como exemplo, a vitamina B12, essencial para o crescimento das algas, pode ser obtida através de uma relação mutualística com bactérias (CROFT *et al.*, 2005; HELLIWELL *et al.*, 2011).

Para algumas espécies de macroalgas, a interação com as comunidades bacterianas epifíticas é fundamental, já que a microbiota tem influência no desenvolvimento morfológico normal do seu hospedeiro (MATSUO, 2005; SINGH *et al.*, 2011; SPOERNER *et al.*, 2012). Além das bactérias epifíticas, as endofíticas também podem beneficiar as macroalgas pela absorção de nutrientes como nitrogênio e fósforo, permitindo que essas algas cresçam em sistemas oligotróficos (CHISHOLM *et al.*, 1996). Os simbiontes endofíticos produzem também metabólitos que melhoram a habilidade do hospedeiro e sua resistência aos estressores ambientais, obtendo em troca nutrientes e abrigo (KOUZUMA; WATANABE, 2015).

A interação das bactérias com as macroalgas tem revelado uma importante função de defesa química, protegendo o hospedeiro de predadores, competidores e outros microrganismos patogênicos. Essas bactérias associadas produzem metabólitos especiais que agem em conjunto com seus hospedeiros (WEINBERGER; HOPPE; FRIEDLANDER, 1997; MIESZKIN; CALLOW; CALLOW, 2013).

Conjectura-se que microrganismos epibiontes podem ajudar algumas macroalgas a produzir compostos, em uma associação sinérgica (CARVALHO *et al.*, 2017; CHAKRABORTY *et al.*, 2017). Batista e colaboradores (2014) mostraram que extratos de macroalgas que possuíam microrganismos associados foram mais ativos

em inibir o *quorum sensing* bacteriano que aqueles sem, indicando uma colaboração entre as macroalgas e seus microrganismos associados.

Alguns autores atribuem um papel importante para as bactérias epífitas na produção de substâncias de defesa que protegem a alga hospedeira contra a bioincrustação (KANAGASABHAPATHY *et al.*, 2009; ROMERO *et al.*, 2011). Assim, as questões sobre a verdadeira origem biossintética de moléculas isoladas das algas ainda não são muito bem compreendidas (GOECKE *et al.*, 2010). Porém, há um crescente interesse em investigar o papel dos microrganismos associados às algas como fonte de substâncias bioativas naturais (EGAN; THOMAS; KJELLEBERG, 2008). A Tabela 1 sumariza alguns estudos com bactérias associadas às macroalgas mostrando seu potencial contra organismos incrustantes.

Tabela 1 - Exemplos de trabalhos que mostraram a bioatividade das bactérias associadas às macroalgas contra organismos incrustantes. *Os autores não identificaram as bactérias.

Atividade	Bactérias	Espécies de macroalgas	Localidade	Autores
Inibidora do assentamento de zoósporos de <i>Ulva lactuca</i> e antilarvar de <i>Hydroides ezoensis</i>	32 % das 192 bactérias isoladas*	<i>Chondrus ocellatus</i> , <i>Dumontia simplex</i> , <i>Enteromorpha</i> sp., <i>Grateloupia filicina</i> , <i>Halymenia sinensis</i> , <i>Monstroma</i> sp., <i>Porphyra</i> sp., <i>Sargassum thunbergii</i> , <i>Sargassum</i> sp., <i>Ulva lactuca</i> , <i>Ulva pertusa</i>	Costa de Dalian, China	(MA <i>et al.</i> , 2009)
Inibição do assentamento e metamorfose larvar de <i>Polychaeta</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Ulva reticulata</i>	Pier Wong Shek, Hong Kong	(DOBRETISOV; QIAN, 2002)
Inibição da germinação do zoósporo e assentamento de <i>Ulva lactuca</i>	<i>Alteromonas</i> sp.	<i>Rhodymenia</i> sp.	Norte do Chile	(SILVA-ACIARES; RIQUELME, 2008)
Produção de autoindutores (N-acylhomoserine lactones) de quorum sensing com atividade antialgal	19 das 24 bactérias isoladas*	<i>Fucus spiralis</i> , <i>Gracilaria verrucosa</i> , <i>Enteromorpha</i> sp., <i>Cystoseira baccata</i> , <i>Ulva lactuca</i> , <i>Sargassum muticum</i> , <i>Bifurcaria bifurcata</i> , <i>Fucus vesiculosus</i> , <i>Gracilaria multipartita</i>	Mar de Wadden Alemão e Galiza, Espanha	(ZIESCHE <i>et al.</i> , 2015)
Inibidora contra fungos marinhos, bactérias, larvas de invertebrados, e esporos de algas	<i>Pseudoalteromonas tunicata</i>	<i>Ulva australis</i>	Não determinada	(HOLMSTRÖM <i>et al.</i> , 2002;

Roseobacter
gallaeciensis

RAO et al.,
2007)

A associação entre as bactérias e as macroalgas pode ser espécie específica e, provavelmente, é determinada pelos nutrientes fornecidos pelo hospedeiro (BONDOSO *et al.*, 2017). Outro ponto a se destacar é que as comunidades bacterianas associadas às macroalgas marinhas diferem daquelas encontradas na água do mar, no sedimento ou em substratos circundantes (AIRES; SERRÃO; ENGELEN, 2016; PARROT *et al.*, 2019). As comunidades bacterianas podem também mudar temporal e espacialmente ao longo das estações, fases da vida e tipos de tecido algal, tendo a influência de fatores bióticos e abióticos (BENGTSSON *et al.*, 2012; AIRES; SERRÃO; ENGELEN, 2016).

As interações entre macroalgas e bactérias podem ser afetadas por alterações nas condições ambientais, como aumento da temperatura da água do mar e acidificação dos oceanos, causadas pelas mudanças climáticas (CASE *et al.*, 2011; EGAN *et al.*, 2014; KUMAR *et al.*, 2016). Esses fatores funcionam como estressores ambientais modificando as comunidades microbianas, causando uma disbiose que pode transformar uma interação positiva em negativa entre as espécies (FERNANDES *et al.*, 2011; DE FOUW *et al.*, 2016; EGAN; GARDINER, 2016).

1.3 MECANISMOS DE DEFESA DAS MACROALGAS

Algumas espécies de macroalgas raramente possuem bactérias epífitas, indicando a possível presença de mecanismos de defesa antimicrobiana (LAM; STANG; HARDER, 2008; DAHMS; DOBRETSOV, 2017). Além disso, muitas macroalgas previnem a bioincrustação através de diferentes mecanismos físicos e químicos. Os métodos físicos consistem na eliminação regular de camadas de células superficiais, a criação de uma cobertura mucilaginosa, a contínua erosão das extremidades distais das lâminas; além de turbulência da água e abrasão (NYLUND; PAVIA, 2005; SULLIVAN; REGAN, 2011). Adicionalmente, as macroalgas apresentam defesas químicas, como a produção de compostos biogênicos, que são comumente utilizados por organismos sésseis para evitar a epibiose (LACHNIT *et al.*, 2013). As macroalgas são capazes de produzir compostos que agem como sinais químicos para influenciar positivamente ou negativamente o estabelecimento de outras algas ou invertebrados (WALTERS; HADFIELD; SMITH, 1996).

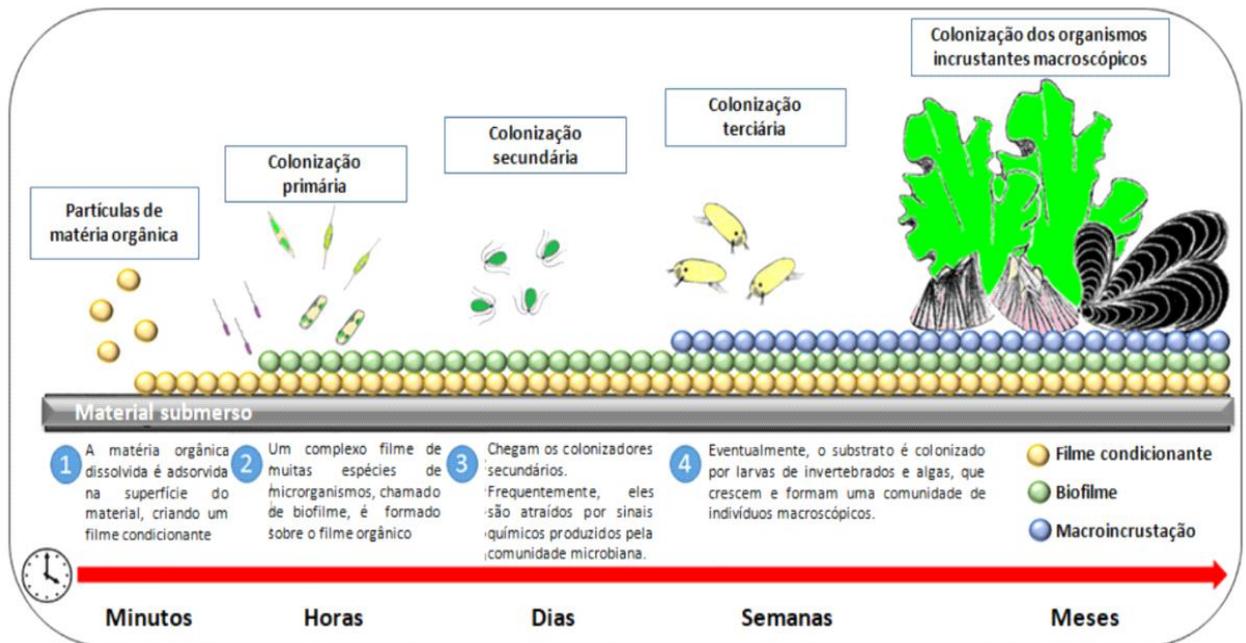
Sinais químicos produzidos por *Dictyota acudloba*, *D. sandvicensis*, *Sargassum echinocarpum*, *S. polyphyllum* e *Sphacelaria tribuloides* atuam contra o estabelecimento de larvas de invertebrados. Já a macroalga *Padina australis* produz sinais estimuladores para o estabelecimento larvar (WALTERS; HADFIELD; SMITH, 1996). Além disso, algumas macroalgas produzem compostos anti-incrustantes e anti-herbivoria (DA GAMA *et al.*, 2002; SUDATTI *et al.*, 2008; PARADAS *et al.*, 2010). Um exemplo são as macroalgas do gênero *Laurencia*, conhecidas por produzir um composto anti-incrustante, o elatol, que limita a colonização de sua superfície e o consumo por herbívoros (PEREIRA *et al.*, 2003).

Assim, as moléculas de defesa sintetizadas pelas macroalgas têm se mostrado eficientes na inibição da colonização por bactérias, na inibição da fixação e no desenvolvimento de fungos, microalgas e também de macroorganismos (BHADURY; WRIGHT, 2004; LAM; STANG; HARDER, 2008; CHAMBERS *et al.*, 2011), reduzindo assim, o processo de bioincrustação.

1.4 BIOINCRUSTAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

No ambiente marinho, qualquer substrato natural e artificial é rapidamente colonizado por micro e macroorganismos em um processo chamado de bioincrustação (MARTÍN-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016) (Figura 3).

Figura 3: Representação esquemática do processo de bioincrustação.



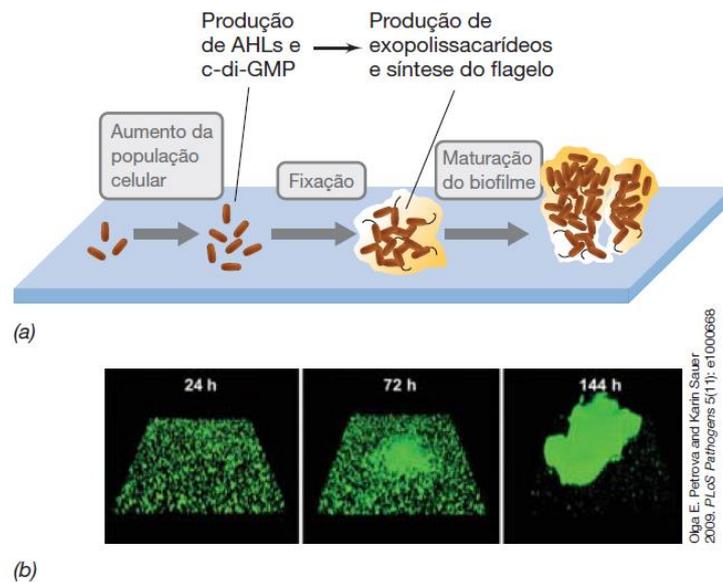
Adaptado de MARTÍN-RODRÍGUEZ *et al.* (2015).

A bioincrustação causa sérios problemas à indústria naval e petrolífera, causando a corrosão das estruturas feitas de aço (como os cascos de navios), a diminuição da velocidade do navio (devido ao arrasto) e problemas técnicos em sistemas de aquicultura (YEBRA *et al.*, 2006; SCHULTZ *et al.*, 2011). Os países têm investido milhões de dólares para prevenir e controlar esse problema. Os principais métodos de controle da bioincrustação são o uso de tintas anti-incrustantes baseadas em substâncias tóxicas, como organoestânicos (TBT), cobre e outros compostos que são prejudiciais para o ambiente marinho e tóxicos para os seres humanos (COELHO; LANGSTON; BEBIANNO, 2006; GRONDIN *et al.*, 2007). Devido à proibição do uso do TBT em todo o mundo (VAN WEZEL; VAN VLAARDINGEN, 2004), surgiu a necessidade de encontrar alternativas anti-incrustantes não tóxicas e não prejudiciais aos seres vivos.

A primeira etapa para uma comunidade bioincrustante se instalar é a formação do biofilme bacteriano. Biofilmes são comunidades complexas de microrganismos que podem incluir bactérias de diferentes grupos, diatomáceas, fungos e protozoários (WORTHINGTON; RICHARDS; MELANDER, 2012) (Figura 4). Estes microrganismos ficam inseridos em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares que é secretada pelas bactérias como um material mucoso complexo (HADFIELD, 2011),

que se adere a uma superfície biótica (por exemplo, tecidos) ou abiótica (por exemplo, rochas).

Figura 4 - Formação do biofilme em *Pseudomonas*. (a) Com o aumento da população celular, a produção da molécula sinalizadora homoserina lactona, AHL (do inglês, acyl homoserine lactones), e do c-di-GMP se intensifica. Essas moléculas sinalizadoras participam da ativação da síntese de exopolissacarídeos e do flagelo, necessária para a formação do biofilme. (b) Microscopia confocal de varredura mostrando a progressão da formação do biofilme de *P. aeruginosa* no período de 144 horas.



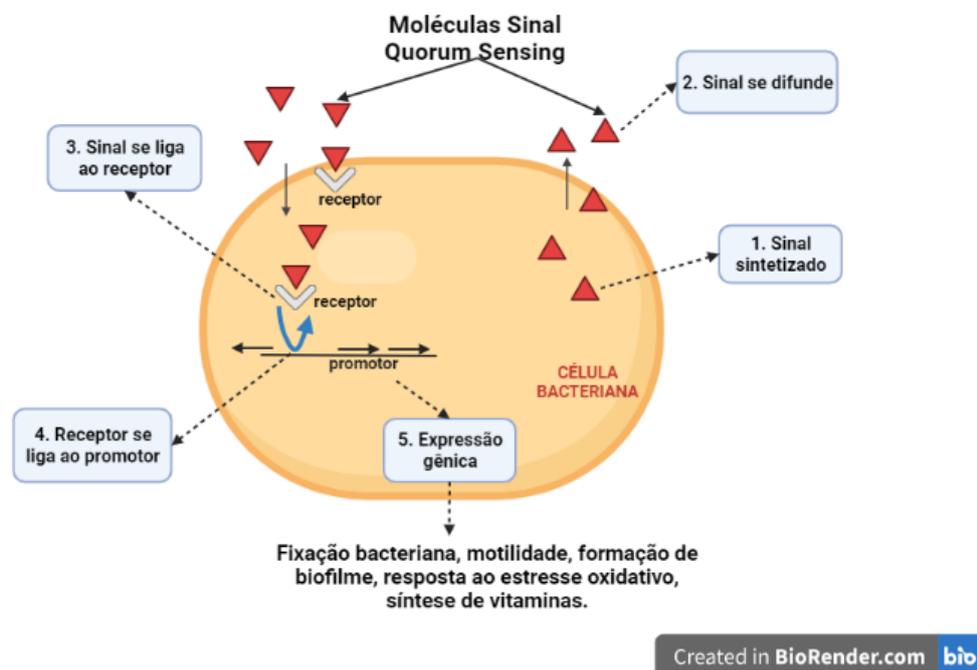
Fonte: Madigan (2016).

Biofilmes são semelhantes a organismos multicelulares em forma e função, visto que eles são associações de células que agem em conjunto, com base na comunicação mediada pela sinalização entre as células que é controlada, muitas vezes, pelo mecanismo chamado *Quorum Sensing* (QS) (STEINBERG *et al.*, 2011).

QS é uma forma de comunicação bacteriana, célula-célula, que depende da densidade celular para acontecer. Durante este processo, as bactérias produzem e excretam moléculas sinalizadoras conhecidas como autoindutores, que se acumulam e difundem para fora da célula (STEINBERG *et al.*, 2011; WATERS; BASSLER, 2005). Quando a densidade bacteriana no biofilme é suficientemente elevada, essas moléculas atingem uma concentração limite e começam a se ligar a proteínas receptoras que promovem a transcrição de genes específicos, regulando a divisão celular (SWIFT *et al.*, 2001) (Figura 5). Sinais QS desempenham um papel importante nas interações entre as bactérias e seus hospedeiros eucarióticos. Os organismos eucariontes podem detectar sinais de QS bacterianos e esses tipos de sinais induzem

a sua fixação (JOINT; TAIT; WHEELER, 2007). Além disso, os hospedeiros eucariontes podem inibir os sinais bacterianos QS. Por exemplo, a macroalga *Delisia pulchra* inibe QS produzindo furanonas, que são análogas aos autoindutores das bactérias (MANEFIELD *et al.*, 1999, 2002). Assim, a inibição do QS bacteriano fornece uma nova estratégia para prevenir a bioincrustação.

Figura 5 - Mecanismo do *Quorum Sensing* desempenhado pelas bactérias.



Fonte: Adaptado de DOBRETSOV; TEPLITSKI; PAUL (2009).

Atualmente, pesquisadores tem descoberto uma infinidade de novas moléculas bioativas isoladas de organismos marinhos que possuem ação anti-incrustante, dentre outras propriedades (BHADURY; WRIGHT, 2004; DA GAMA *et al.*, 2008; IYAPPARAJ *et al.*, 2014). Os principais obstáculos, entretanto, à utilização biotecnológica de produtos naturais marinhos estão relacionados à sua produção em larga escala. Compostos bioativos de organismos marinhos são encontrados em pequenas quantidades, e para se obter quantidades suficientes destes compostos, os pesquisadores precisariam coletar e extrair grande quantidade desses organismos marinhos (THOMS; SCHUPP, 2005).

Os microrganismos marinhos possuem vantagens como fonte de compostos bioativos em relação a outros organismos. Isto porque eles produzem uma alta

diversidade de metabólitos especiais, devido à elevada diversidade microbiana, e, quando cultiváveis, podem produzir grandes quantidades de compostos, o que facilita a extração e elucidação da sua estrutura química (MUSCHOLL-SILBERHORN; THIEL; IMHOFF, 2008; THIRUMURUGAN *et al.*, 2018). Outra vantagem é que eles podem produzir compostos mais rapidamente e em maiores quantidades em comparação a outros organismos marinhos (WILKINS; SCHÖLLER, 2009; TYC *et al.*, 2017). Além disso, alguns microrganismos podem ser facilmente modificados geneticamente e quimicamente, de modo a aumentar o rendimento dos compostos e sua bioatividade (SEKUROVA; SCHNEIDER; ZOTCHEV, 2019; HUG; KRUG; MÜLLER, 2020). Além disso, muitos microrganismos (especialmente as bactérias) podem ser cultivados em larga escala, o que aumenta e facilita a produção de compostos de interesse biotecnológico. Assim, a descoberta de compostos produzidos por bactérias poderá prover fontes alternativas de substâncias anti-incrustantes sustentáveis, capazes de reduzir os danos ao ambiente.

1.5 PRODUÇÃO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS POR BACTÉRIAS

Diversas bactérias são conhecidas por produzir substâncias bioativas de interesse em várias áreas como, antibióticos, anticancerígenos, antifúngicos, anti-inflamatórios, anti-*quorum sensing*, anti-incrustante entre outros (DOBRETSOV *et al.*, 2006; HABBU *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2017; BARZKAR *et al.*, 2019; HORTA *et al.*, 2019; JEGAN S; MANJUSHA W, 2020; KIZHAKKEKALAM; CHAKRABORTY, 2021). Essas substâncias bioativas são conhecidas como metabólitos secundários, metabólitos especiais, ou produtos naturais, definidas como um grupo de substâncias naturais que, ao contrário dos metabólitos primários, não estão diretamente envolvidas no crescimento, desenvolvimento ou reprodução de organismos, mas são produzidos por razões fisiológicas específicas e estão relacionadas, portanto, com a ecologia desses organismos (JENKE-KODAMA; MÜLLER; DITTMANN, 2008).

As bactérias marinhas habitam diversos ambientes com condições variadas de temperatura, oxigenação, salinidade, pH, entre outros, e precisam desenvolver estratégias adaptativas para sobreviver nesses ambientes (O'BRIEN; WRIGHT, 2011). Os metabólitos secundários das bactérias podem ser antibióticos, toxinas, pigmentos, entre outros, que não são essenciais ao crescimento vegetativo dos

microrganismos (THILAKAN; CHAKRABORTY; CHAKRABORTY, 2016; CHAKRABORTY; THILAKAN; RAOLA, 2017). Os metabólitos especiais produzidos por microrganismos incluem peptídeos, policetídeos, carboidratos, lipídios, terpenóides, esteróides e alcalóides, e podem ser elaborados a partir de metabólitos primários, ligando esses dois ramos do metabolismo (O'BRIEN; WRIGHT, 2011).

Nos últimos anos, o número de relatos dos compostos bioativos derivados de bactérias e fungos marinhos têm aumentado constantemente (SINGH; KUMARI; REDDY, 2015; SRINIVASAN *et al.*, 2021). Como exemplo, tem-se o extrato da bactéria *Nocardia* sp., isolada da macroalga vermelha *Laurenica spectabilis*, que contém compostos ativos contra patógenos bacterianos e fúngicos (EL-GENDY; HAWAS; JASPARS, 2008). Outro exemplo de composto bioativo produzido por bactérias é a tiocoralina um depsipeptídeo que inibe a DNA polimerase, produzido pela bactéria *Micromonospora* sp. que foi aplicado no tratamento do câncer em pesquisas pré-clínicas (NEWMAN; CRAGG, 2004). Dois policetídeos de *Bacillus amyloliquefaciens*, uma bactéria heterotrófica associada à macroalga *Padina gymnospora*, 3(octaidro-9 isopropil-2H benzo[h]cromen-4-il)-2-metilpropil benzoato e metil 8-(2-(benzoiloxi)-etil)-hexa-hidro-4-((E)-pent-2-enil)-2H-cromeno-6-carboxilato exibem atividade contra patógenos alimentares oportunistas humanos (CHAKRABORTY; THILAKAN; RAOLA, 2018). Além da seriniquinona, isolada da bactéria marinha do gênero *Serinicoccus*, que demonstrou atividade contra células tumorais de melanoma (TRZOSS *et al.*, 2014).

Além da ação anticâncer, antifúngica e antibacteriana já citadas, podemos destacar também a ação inibidora de QS a partir de microrganismos marinhos (CHEN *et al.*, 2019). Por exemplo, tem-se o caso de *Halobacillus salinus*, uma bactéria isolada de erva marinha em South Kingstown (EUA), que produz dois metabólitos da fenetilamida, 2,3-metil-N- (2'-feniletil) -butiramida (1) e N- (2'-feniletil) -isobutiramida (2) capazes de inibir o QS de duas estirpes bacterianas. Eles agiram como antagonistas do QS bacteriano competindo com a molécula sinalizadora N-acil-homoserina para ligação ao receptor (TEASDALE *et al.*, 2009).

Muitos genes responsáveis pela síntese desses metabólitos especiais têm sido descritos no genoma bacteriano, e eles ajudaram a identificar uma gama de organismos promissores ao redor do mundo. Entre esses genes podemos citar

policetídeo sintase (PKS, do inglês “*polyketide synthase*”) e o peptídeo sintetase não-ribossômico (NRPS, do inglês “*non-ribosomal peptide synthetase*”) (CHARLOPPERS *et al.*, 2015). Peptídeos não ribossomais (NRP) e policetídeos (PK) são classes de compostos naturais produzidos por bactérias, fungos e plantas, por meio de vias biossintéticas em que não há participação direta dos ribossomos (FISCHBACH; WALSH, 2006).

Os principais filos de bactérias produtoras de peptídeos não ribossomais são *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* e *Cyanobacteria* (BIBB, 2005). Os NRP são precursores de uma infinidade de produtos com atividade biológica como antibióticos, imunossupressores, antitumorais, entre outros (GONZÁLEZ; SIGRIST; PAULO, 2016). Exemplos desses peptídeos mais conhecidos são os antibióticos como a vancomicina e a daptomicina produzidos pelas bactérias *Amycolatopsis orientalis* e *Streptomyces roseosporus*, respectivamente (WAGENINGEN *et al.*, 1998; MIAO *et al.*, 2005); além do agente imunossupressor ciclosporina e o composto antitumoral bleomicina (FELNAGLE *et al.*, 2008). Vários autores tem demonstrado o grande potencial dos peptídeos não ribossomais na descoberta de novos fármacos (WANG *et al.*, 2014).

Já os policetídeos representam um grupo altamente diversificado de produtos naturais com esqueletos de carbono montados a partir de blocos simples de construção de acila (HERTWECK, 2009). São sintetizados por enzimas chamadas de sintases de policetídeos (PKSs), com biossíntese semelhante à de ácidos graxos (SMITH; TSAI, 2007), embora as duas vias metabólicas tenham divergido em uma fase inicial durante a evolução (HERTWECK, 2009). As sintases de policetídeos são classificadas, com base em sua arquitetura proteica, em três famílias distintas (I, II e III) (PAULO; SIGRIST; DE OLIVEIRA, 2019).

Existem também compostos bioativos que são sintetizados por um sistema híbrido NRPS-PKS (WANG *et al.*, 2014), como a Leinamicina um antibiótico (antitumoral) híbrido peptídeo-policetídeo produzido por *Streptomyces atroolivaceus* (TANG; CHENG; SHEN, 2006). Outros exemplos, incluem ainda Laspartomicina, holomicina, piridomicina, chaxamicinas A–D, emericelamida A e acetilaszonalenina, todos eles compostos bioativos derivados das vias NRPS/PKS descobertos por estratégias de mineração genômica, técnica esta que atua na prospecção de genes de moléculas bioativas (OLIVEIRA; PUPO; VIEIRA, 2013).

As bactérias também são capazes de realizar biotransformação, processo que consiste em fazer transformações químicas em substâncias que não constituem os substratos naturais. Um exemplo de transformação microbiana é a realizada pela bactéria do gênero *Acetobacter*, que faz a conversão de etanol em ácido acético (LERESCHE; MEYER, 2006). Alguns fármacos utilizados atualmente são produzidos a partir da biotransformação por microrganismos, como é o caso da fluoxetina, cuja síntese é iniciada com uma etapa de bioconversão catalisada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* (PEREIRA, 1997). O uso de microrganismos para a realização de reações químicas tem se tornado uma ferramenta eficaz para a produção de substâncias com atividades biológicas (BOAVENTURA; LOPES; TAKAHASHI, 2004).

Os microrganismos apresentam, portanto, uma surpreendente capacidade de produzir substâncias químicas com diversas ações de interesse biotecnológico, e as bactérias marinhas vem ganhando destaque na prospecção de novos fármacos. A Tabela 2 sumariza alguns estudos de atividade antimicrobiana de bactérias associadas a macroalgas, mostrando seu potencial biotecnológico.

Tabela 2 – Potencial antibacteriano de bactérias associadas à diversas espécies de macroalgas.

Atividade	Porcentagem de bactérias ativas	Espécies de macroalgas	Localidade	Autores
Antibacteriana contra <i>Staphylococcus aureus</i>	17 % das 224 bactérias	<i>Ulva intestinalis</i> (citado como <i>Enteromorpha intestinalis</i>), <i>U. compressa</i> (citado como <i>E. compressa</i>), <i>U. lactuca</i> , <i>Fucus ceranoides</i> , <i>Pelvetia canaliculata</i>	Noroeste da Espanha	(LEMOS; TORANZO; BARJA, 1985)
Antibacteriana contra espécies de <i>Vibrio</i> , <i>Photobacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> e <i>Salmonella</i>	20 % das 116 bactérias	<i>Sargassum serratifolium</i> , <i>S. fusiforme</i> , <i>S. horneri</i> (citado como <i>S. filicinum</i>), <i>Padina arborescens</i> , <i>Undaria pinnatifida</i> , <i>Petalonia fascia</i> , <i>Colpomenia sinuosa</i> , <i>Scytosiphon lomentaria</i> , <i>Ecklonia cava</i>	Hyogo, Japão	(KANAGASABHA PATHY <i>et al.</i> , 2006)
Antimicrobiana contra <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Candida albicans</i>	12 % de 325 bactérias	<i>Delisea pulchra</i> e <i>Ulva australis</i>	Sydney, Austrália	(PENESYAN <i>et al.</i> , 2009)
Antibacteriana contra espécies de <i>Vibrio</i> , <i>Photobacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Salmonella</i>	33 % de 92 bactérias	<i>Pachymeniopsis lauceolata</i> , <i>Plocamium telfairiae</i> , <i>Gelidium amansii</i> , <i>Chondrus ocellatus</i> , <i>Grateloupia filicina</i> , <i>Ceramium kondoii</i> , <i>Fushitsunagia catenata</i> (citado como <i>Lomentaria catenata</i>), <i>Schizymenia dubyi</i> , <i>Neopyropia yezoensis</i> (citado como <i>Porphyra yezoensis</i>)	Hyogo, Japão	(KANAGASABHA PATHY; SASAKI; NAGATA, 2008)

Antibacteriana contra <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Acinetobacter</i>	5 % das 21 bactérias	<i>Corallina officinalis</i> e <i>Fucus vesiculosus</i>	Não determinad a	(BURGESS <i>et al.</i> , 1999)
Antimicrobiana contra <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus lentus</i> , <i>Bacillus</i> <i>subtilis</i> e <i>Candida glabrata</i>	50 % das 210	<i>Saccharina latíssima</i> (citado como <i>Laminaria saccharina</i>)	Mar Báltico, Alemanha	(WIESE <i>et al.</i> , 2009)
Antibacteriana contra <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Klebshilla</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Salmonells</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Shigella</i> e <i>Serratia</i>	8 % das 126	<i>Gracilaria corticata</i> , <i>Gelidium pussillum</i> , <i>Hypnea musciformis</i> , <i>Padina gymnospora</i> , <i>Valoniopsis pachynema</i>	Costa sudeste da Índia	(JANAKIDEVI <i>et</i> <i>al.</i> , 2013)
Antibacteriana e anti-diatomácea	60 % das 10 bactérias	<i>Ulva lactuca</i>	Suva, Fiji	(KUMAR <i>et al.</i> , 2011)
Antibacteriana contra <i>B. subtilis</i> e <i>S.</i> <i>aureus</i>	57 % das 21 bactérias	<i>Asparagopsis armata</i>	Peniche, Portugal	(HORTA <i>et al.</i> , 2019)
Antibacteriana contra <i>Plesiomonas</i> , <i>Photobacterium</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Edwardsiella</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Staphylococcus</i> e <i>Enterococcus</i>	53 % das 148 bactérias	33 diferentes macroalgas (<i>Phaeophyceae</i> , <i>Rhodophyceae</i> e <i>Chlorophyceae</i>)	Península da Índia	(KIZHAKKEKALA M; CHAKRABORTY, 2020)

Antibacteriana contra <i>Vibrio</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i> <i>E. coli</i> , <i>Edwardsiella</i> e <i>Streptococcus</i>	35 % das 148 bactérias	<i>Sargassum myricocystum</i> , <i>Padina gymnospora</i> , <i>Turbinaria ornata</i> , <i>Hypnea valentiae</i> , <i>Kappaphycus alvarezii</i> , <i>Ulva reticulata</i> , <i>Caulerpa racemosa</i>	Costa sul da Índia Peninsular	(KIZHAKKEKALA M; CHAKRABORTY, 2019)
Antibacteriana contra <i>Zobellia</i> , <i>Kocuria</i> , <i>Algibacter</i> , <i>Citricoccus</i> , <i>Janibacter</i>	16 % das 31 bactérias	<i>Adenocystis utricularis</i> , <i>Monostroma hariotti</i> , <i>Iridaea cordata</i> , <i>Phycodrys antarctica</i> , <i>Pyropia endiviifolia</i> , <i>Plocamium cartilagineum</i>	Ilha King George, Península Antártica	(LEIVA <i>et al.</i> , 2015)
Antibacteriana contra 19 cepas indicadoras, entre elas: <i>Staphylococcus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Pseudomonas</i>	36 % das 71 bactérias	<i>Ulva rigida</i>	Costa norte da Tunísia	(ISMAIL <i>et al.</i> , 2018)
Antibacteriana contra nove cepas de incrustação isoladas de várias superfícies incrustadas	21 % das 280 bactérias	<i>Fucus serratus</i> , <i>Himanthalia elongata</i> , <i>Laminaria digitata</i> , <i>Palmaria palmata</i> , <i>Corallina officinalis</i> , <i>Codium fragile subsp. fragile</i> (citado como <i>C. fragile subsp. Tomentosoides</i>) e <i>Ulva lactuca</i>	Sudeste da Escócia	(BOYD; ADAMS; BURGESS, 1999b)
Antibacteriana contra 18 cepas indicadoras entre elas: <i>Vibrio</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>E. coli</i> e <i>Pseudomonas</i>	28 % das 18 bactérias	<i>Padina pavonica</i>	Costa norte da Tunísia	(ISMAIL <i>et al.</i> , 2016)
Antibacteriana contra <i>E. coli</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> ,	36 % das 19 bactérias	<i>Jania rubens</i>	Costa norte da Tunísia	(ISMAIL-BEN ALI <i>et al.</i> , 2012)

<i>Salmonella, Streptococcus, Staphylococcus</i>				
Atividade antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus, E. coli, Candida albicans</i>	28 % das 830 bactérias	<i>Gracilaria salicornia, Hypnea musciformis, Acanthophora spicifera, Palisada perforata</i> (citado como <i>Chondrophycus papillosus</i>), <i>G. corticata, Phacelocarpus tristichus, H. pannosa, Laurencia, Codium geppiorum, Ulva lactuca</i> (citado como <i>U. fasciata</i>), <i>Caulerpa mexicana, C. sertularioides, U. reticulata, Turbinaria decurrens, Sargassum ilicifolium</i> (citado como <i>S. cristaefolium</i>), <i>Spatoglossum asperum, Padina tetrastromatica, Canistrocarpus cervicornis</i> (citado como <i>Dictyota cervicornis</i>), <i>Colpomenia sinuosa, Lobophora variegata</i>	Mombasa, Quênia	(KAARIA <i>et al.</i> , 2015)
Antibacteriana contra <i>Polaribacter irgensii, Pseudoalteromonas elyakovii, P. fluorescens Shewanella putrefaciens, Vibrio communis, V. alginolyticus V. coralliilyticus, S. aureus, E. coli, P. aeruginosa</i>	58 % das 61 bactérias	<i>Colpomenia sinuosa, Sargassum vulgare, Pterocladia capillacea, Ulva sp.</i>	Arraial do Cabo/ RJ. Brasil	Presente trabalho

1.6 BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

1.6.1 Bactérias patogênicas aos seres humanos

Apesar de existirem muitos compostos que exibem alta atividade biológica e seus produtos naturais serem amplamente utilizados na farmacologia, cosméticos, indústria alimentícia e agricultura, algumas bactérias (como *Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* e *Yersinia* sp.) sintetizam exotoxinas, que são metabólitos secundários e causam doenças em humanos.

Após a descoberta do primeiro antibiótico, a penicilina, por Alexander Fleming e sua comercialização na década de 1940, as doenças bacterianas (causadas por cocos Gram-positivos) foram controladas (GUO *et al.*, 2020). Entretanto, com o uso generalizado da penicilina desde a década de 1950, o *Staphylococcus aureus* resistente à penicilina surgiu rapidamente na área clínica. Desde então, novas substâncias semissintéticas e sintéticas têm sido desenvolvidas para tentar acompanhar a evolução dos microrganismos que se tornam resistentes a elas (RAYNER; MUNCKHOF, 2005; KHOSHNOOD *et al.*, 2019). A resistência microbiana é definida como a capacidade dos microrganismos de resistirem aos efeitos dos antibióticos. Como é o caso da resistência adquirida, onde os microrganismos sofrem alterações quando expostos a antimicrobianos, devido à aquisição de genes de resistência. Ela pode ser desenvolvida de duas maneiras, através de mutações ou de mecanismos que envolvem a troca genética entre os microrganismos (MUNITA; ARIAS, 2016).

Diversas cepas bacterianas resistentes a antibióticos vêm causando grandes problemas, como é o caso do *S. aureus* resistente à metilicilina (MRSA). Em países como a China, a taxa de mortalidade da infecção por MRSA excedeu as da aids, doença de Parkinson e assassinatos (LESSA *et al.*, 2012). A resistência aos antimicrobianos é um problema global que pode se tornar a principal causa de mortalidade até 2050, por isso, requer atenção das autoridades de saúde pública (O'NEILL, 2016). Além disso, se nenhuma solução proativa for tomada agora para retardar o aumento da resistência a medicamentos, estima-se que o prejuízo até 2050 será de cerca de 100 trilhões de dólares (O'NEILL, 2016).

Por essa razão, a descoberta de novos antimicrobianos que tratem esses microrganismos resistentes é imprescindível, já que os fármacos existentes não serão

mais eficientes dentro de alguns anos se o uso indiscriminado de antimicrobianos não parar. Diante disso, as bactérias associadas às macroalgas podem fornecer os subsídios para a busca dessas substâncias na natureza, e apresentam grande potencial para o desenvolvimento de novas gerações de agentes antibióticos contra microrganismos multirresistentes.

1.6.2 Bactérias patogênicas de ambientes marinhos

As bactérias patogênicas podem ser encontradas em todos os oceanos e são frequentemente identificadas em organismos doentes como: corais, peixes, entre outros, no ambiente natural. Algumas espécies bacterianas são classificadas como oportunistas, que são espécies de microrganismos capazes de causar doenças, principalmente em ocasiões de desequilíbrio ambiental, como alterações drásticas na temperatura da água e na disponibilidade de nutrientes (VEZZULLI; COLWELL; PRUZZO, 2013)

As espécies do gênero *Vibrio* são frequentemente relatadas como simbioses de organismos marinhos e, na maioria das vezes, não são patogênicas (CHIMETTO *et al.*, 2011). Entretanto, algumas espécies possuem registros de patogenicidade, causando sintomas como: septicemia, hemorragia e úlceras massivas ou necrose na superfície da pele ou em alguns tecidos de animais marinhos (WANG *et al.*, 2007; VEZZULLI; COLWELL; PRUZZO, 2013). *Vibrio neptunius* já foi relatado como microrganismo patogênico de moluscos (PRADO *et al.*, 2005), assim como *Vibrio coralliilyticus*, espécie causadora de doenças em corais (BEN-HAIM *et al.*, 2003).

Bactérias patogênicas de ambientes marinhos não só podem causar prejuízos ecológicos, como também econômicos no ramo da aquicultura (DONG *et al.*, 2021; MARTÍNEZ-LARA *et al.*, 2021). A aquicultura ou aqüicultura é definida, segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação), como o cultivo de organismos aquáticos como peixes, moluscos, crustáceos, plantas aquáticas, répteis e anfíbios. A aquicultura desempenha um papel vital na produção de alimentos atualmente. A FAO/ONU estima que 82 milhões de toneladas de pescado tenham sido produzidas pela aquicultura em 2018, o que corresponde a 250 bilhões de dólares (ZHOU, 2020).

As bactérias patogênicas de ambientes marinhos podem causar prejuízos ao cultivo de organismos aquáticos, podendo tornar a atividade pouco lucrativa (TAVECHIO WLG; GUIDELLI G; POTTZ L, 2009). Por esta razão, atualmente são utilizados antimicrobianos com a finalidade de matar ou inibir o crescimento desses microrganismos patogênicos, e de forma profilática impedir o desenvolvimento de infecções e a mortalidade (ROMERO; GLORIA; NAVARRETE, 2012). Contudo, essa medicação eventualmente administrada apresenta consequentes impactos sobre o meio ambiente, devido principalmente ao aparecimento de resistência, quer em bactérias comensais do intestino humano, quer em bactérias dos peixes e aquáticas, com possível disseminação de genes de resistência em diversas populações bacterianas (BURRIDGE *et al.*, 2010; GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

Vários gêneros bacterianos isolados da aquicultura têm sido reportados como resistentes a diversos antibióticos, como o gênero *Aeromonas* e a família *Enterobacteriaceae* (GASTALHO; SILVA; RAMOS, 2014; AMARANTE *et al.*, 2018). Por essa razão, são necessárias ações emergenciais que minimizem esses impactos causados pelo uso de antimicrobianos de forma descontrolada. Como a descoberta de novos compostos com aplicações terapêuticas que não envolvam o uso de antimicrobianos convencionais, como por exemplo, aplicações terapêuticas de produtos resultantes das bactérias, como as bacteriocinas e os ácidos graxos.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo Geral

Esta tese teve como objetivo principal estudar a ação antibacteriana de bactérias associadas às macroalgas marinhas.

1.7.2 Objetivos Específicos

1. Isolar bactérias cultiváveis associadas às macroalgas marinhas, *Sargassum vulgare*, *Colpomenia sinuosa*, *Pterocliadiella capillacea* e *Ulva* sp. da região de Arraial do Cabo, RJ (Capítulo 2);
2. Avaliar a ação antibiótica das estirpes bacterianas associadas às macroalgas contra bactérias incrustantes e patogênicas de ambiente marinho e de interesse médico (Capítulo 2);

3. Identificar e caracterizar as estirpes bacterianas produtoras de substância(s) antibacteriana(s), utilizando técnicas moleculares (Capítulo 2);
4. Sintetizar e resumir a literatura sobre bactérias associadas às macroalgas e a produção de metabólitos especiais com atividade antibacteriana (Capítulo 3);
5. Destacar lacunas de conhecimento sobre o tema, recomendar caminhos para pesquisas futuras e sugerir melhores práticas para avançar no campo (Capítulo 3).

1.8 HIPÓTESE

Bactérias associadas às macroalgas marinhas de Arraial do Cabo apresentam atividade antibacteriana contra bactérias incrustantes, patogênicas de ambiente marinho e de interesse médico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL MALIK, S. A. *et al.* **Defence on surface: macroalgae and their surface-associated microbiome.** [s.l.] Elsevier, 2020. v. 95
- AIRES, T.; SERRÃO, E. A.; ENGELEN, A. H. Host and environmental specificity in bacterial communities associated to two highly invasive marine species (genus *Asparagopsis*). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. APR, p. 1–14, 2016.
- AZOULAY, E. *et al.* Diagnosis of severe respiratory infections in immunocompromised patients. **Intensive Care Medicine**, v. 46, n. 2, p. 298–314, 2020.
- BARZKAR, N. *et al.* Metabolites from marine microorganisms, micro, and macroalgae: Immense scope for pharmacology. **Marine Drugs**, v. 17, n. 8, 2019.
- BATISTA, D. *et al.* Extracts of macroalgae from the Brazilian coast inhibit bacterial quorum sensing. **Botanica Marina**, v. 57, n. 6, p. 441–447, 2014.
- BENGTSSON, M. M. *et al.* Bacterial diversity in relation to secondary production and succession on surfaces of the kelp *Laminaria hyperborea*. **ISME Journal**, v. 6, n. 12, p. 2188–2198, 2012.
- BENGTSSON, M. M. *et al.* Utilization of kelp-derived carbon sources by kelp surface-associated bacteria. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 62, n. 2, p. 191–199, 2011.
- BEN-HAIM, Y. *et al.* *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature-dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 309–315, 2003.
- BHADURY, P.; WRIGHT, P. C. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. **Planta**, v. 219, n. 4, p. 561–578, 2004.
- BIBB, M. J. Regulation of secondary metabolism in streptomycetes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 208–215, 2005.
- BOAVENTURA, M. A. D.; LOPES, R. F. A. P.; TAKAHASHI, J. A. Microorganisms as tools in modern chemistry: The biotransformation of 3-indolylacetonitrile and tryptamine by fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 345–347, 2004.
- BONDOSO, J. *et al.* Epiphytic Planctomycetes communities associated with three main groups of macroalgae. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 3, p. 1–9, 2017.
- BOYD, K. G.; ADAMS, D. R.; BURGESS, J. G. Antibacterial and repellent activities of marine bacteria associated with algal surfaces. **Biofouling**, v. 14, n. 3, p. 227–236, dez. 1999.
- BURGESS, J. G. *et al.* Microbial antagonism: a neglected avenue of natural products research. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 35, n. C, p. 27–32, 1999.
- BURRIDGE, L. *et al.* Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306, n. 1–4, p. 7–23, 2010.
- CAMPBELL, A. H. *et al.* Climate change and disease: Bleaching of a chemically defended seaweed. **Global Change Biology**, v. 17, n. 9, p. 2958–2970, 2011.
- CARVALHO, A. P. *et al.* Extracts of seaweeds as potential inhibitors of quorum sensing

- and bacterial growth. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 789–797, 2017.
- CASE, R. J. *et al.* Temperature induced bacterial virulence and bleaching disease in a chemically defended marine macroalga. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 2, p. 529–537, 2011.
- CHAKRABORTY, K.; THILAKAN, B.; RAOLA, V. K. Antimicrobial polyketide furanoterpenoids from seaweed-associated heterotrophic bacterium *Bacillus subtilis* MTCC 10403. **Phytochemistry**, v. 142, p. 112–125, 2017.
- CHAKRABORTY, K.; THILAKAN, B.; RAOLA, V. K. Previously Undescribed Antibacterial Polyketides from Heterotrophic *Bacillus amyloliquefaciens* Associated with Seaweed *Padina gymnospora*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 184, n. 2, p. 716–732, 2018.
- CHAMBERS, L. D. *et al.* Investigation of *Chondrus crispus* as a potential source of new antifouling agents. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 7, p. 939–946, 2011.
- CHARLOP-POWERS, Z. *et al.* Global biogeographic sampling of bacterial secondary metabolism. **eLife**, v. 2015, n. 4, p. 1–10, 2015.
- CHEN, J. *et al.* Quorum sensing inhibitors from marine microorganisms and their synthetic derivatives. **Marine Drugs**, v. 17, n. 2, 2019.
- CHIMETTO, L. A. *et al.* *Vibrio variabilis* sp. nov. and *vibrio maritimus* sp. nov., isolated from palythoa caribaeorum. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. 12, p. 3009–3015, 2011.
- CHISHOLM, J. R. M. *et al.* “Roots” in mixotrophic algae. **Nature**, v. 381, n. 6581, p. 382, 1996.
- COELHO, M. R.; LANGSTON, W. J.; BEBIANNO, M. J. Effect of TBT on *Ruditapes decussatus* juveniles. **Chemosphere**, v. 63, n. 9, p. 1499–1505, 2006.
- CROFT, M. T. *et al.* Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. **Nature**, v. 438, n. 7064, p. 90–93, 2005.
- DA GAMA, B. A. P. *et al.* The Effects of Seaweed Secondary Metabolites on Biofouling. **Biofouling**, v. 18, n. 1, p. 13–20, 2002.
- DA GAMA, B. A. P. *et al.* Antifouling activity of natural products from Brazilian seaweeds. **Botanica Marina**, v. 51, n. 3, p. 191–201, 2008.
- DA GAMA, B. A. P.; PLOUGUERNÉ, E.; PEREIRA, R. C. The antifouling defence mechanisms of marine macroalgae. **Advances in Botanical Research**, v. 71, n. February 2016, p. 413–440, 2014.
- DAHMS, H. U.; DOBRETISOV, S. Antifouling compounds from marine macroalgae. **Marine Drugs**, v. 15, n. 9, 2017.
- DE FOUW, J. *et al.* Drought, Mutualism Breakdown, and Landscape-Scale Degradation of Seagrass Beds. **Current Biology**, v. 26, n. 8, p. 1051–1056, 2016.
- DOBRETISOV, S. *et al.* Allelochemical defense against epibiosis in the macroalga *Caulerpa racemosa* var. *turbinata*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 318, p. 165–175, 2006.

- DOBRETISOV, S. V.; QIAN, P.-Y. Effect of Bacteria Associated with the Green Alga *Ulva reticulata* on Marine Micro- and Macrofouling. **Biofouling**, v. 18, n. 3, p. 217–228, 2002.
- DOBRETISOV, S.; TEPLITSKI, M.; PAUL, V. Mini-review: quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling. **Biofouling**, v. 25, n. 5, p. 413–427, 2009.
- DONG, H. *et al.* Interactions of microplastics and antibiotic resistance genes and their effects on the aquaculture environments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, n. July 2020, p. 123961, 2021.
- EGAN, S. *et al.* Bacterial pathogens, virulence mechanism and host defence in marine macroalgae. **Environmental Microbiology**, v. 16, n. 4, p. 925–938, 2014a.
- EGAN, S. *et al.* The seaweed holobiont: Understanding seaweed-bacteria interactions. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 3, p. 462–476, 2013.
- EGAN, S.; GARDINER, M. Microbial dysbiosis: Rethinking disease in marine ecosystems. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JUN, p. 1–8, 2016.
- EGAN, S.; THOMAS, T.; KJELLEBERG, S. Unlocking the diversity and biotechnological potential of marine surface associated microbial communities. **Current Opinion in Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 219–225, 2008.
- EL-GENDY, M. M. A.; HAWAS, U. W.; JASPARS, M. Novel bioactive metabolites from a marine derived bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000. **Journal of Antibiotics**, v. 61, n. 6, p. 379–386, 2008.
- FELNAGLE, E. A. *et al.* Nonribosomal peptide synthetases involved in the production of medically relevant natural products. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p. 191–211, 2008.
- FERNANDES, N. *et al.* Genomes and virulence factors of novel bacterial pathogens causing bleaching disease in the marine red alga *Delisea pulchra*. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 2011.
- FISCHBACH, M. A.; WALSH, C. T. Assembly-line enzymology for polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: Logic machinery, and mechanisms. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 8, p. 3468–3496, 2006.
- FRASCHETTI, S. *et al.* The distribution of hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from micro- to macro-scale: Spatial patterns on habitat-forming algae. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 339, n. 2, p. 148–158, 2006.
- GAO, G. *et al.* Using macroalgae as biofuel: Current opportunities and challenges. **Botanica Marina**, v. 63, n. 4, p. 355–370, 2020.
- GASTALHO, S.; SILVA, G. J.; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: Impacto em saúde pública Antibiotics in aquaculture and bacterial resistance: Health care impact. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 3, p. 29–45, 2014.
- GOECKE, F. *et al.* Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria. **Marine Ecology Progress Series**, v. 409, p. 267–299, 2010.
- GONZÁLEZ, G. D. T.; SIGRIST, R.; PAULO, B. S. Recent advances in genetic

manipulation of organisms for the production of nonribosomal peptides. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1998–2025, 2016.

GRONDIN, M. *et al.* Tributyltin induces apoptotic signaling in hepatocytes through pathways involving the endoplasmic reticulum and mitochondria. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 222, n. 1, p. 57–68, 2007.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Princípios da Utilização Prudente e Racional de Antimicrobianos em Animais. **Guia De Antimicrobianos Em Veterinária**, n. 1, p. 17–30, 2010.

GUO, Y. *et al.* Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, n. 107, p. 1–11, 2020.

HABBU, P. *et al.* Antimicrobial metabolites from marine microorganisms. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 14, n. 2, p. 101–116, 2016.

HADFIELD, M. G. Biofilms and marine invertebrate larvae: what bacteria produce that larvae use to choose settlement sites. **Annual review of marine science**, v. 3, p. 453–470, 2011.

HARDER, T. Marine Epibiosis: Concepts, Ecological Consequences and Host Defence. In: **Marine and industrial biofouling**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2009. p. 219–231.

HELLIWELL, K. E. *et al.* Insights into the evolution of vitamin B 12 auxotrophy from sequenced algal genomes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2921–2933, 2011.

HERTWECK, C. The biosynthetic logic of polyketide diversity. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, n. 26, p. 4688–4716, 2009.

HINOJOSA, I. A. *et al.* Settlement and early survival of southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, under climate-driven decline of kelp habitats. **ICES Journal of Marine Science**, v. 72, n. 6, p. 59–68, 2015.

HOLLANTS, J. *et al.* What we can learn from sushi: A review on seaweed-bacterial associations. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 83, n. 1, p. 1–16, 2013.

HOLMSTRÖM, C. *et al.* Antifouling activities expressed by marine surface associated *Pseudoalteromonas* species. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 41, n. 1, p. 47–58, 2002.

HORTA, A. *et al.* Identification of *Asparagopsis armata*-associated bacteria and characterization of their bioactive potential. **MicrobiologyOpen**, v. 8, n. 11, p. 1–9, 2019.

HUG, J. J.; KRUG, D.; MÜLLER, R. Bacteria as genetically programmable producers of bioactive natural products. **Nature Reviews Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 172–193, 2020.

ISMAIL, A. *et al.* Antimicrobial activities of bacteria associated with the brown alga *Padina pavonica*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JUL, 2016.

ISMAIL, A. *et al.* Heterotrophic bacteria associated with the green alga *Ulva rigida*: identification and antimicrobial potential. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 5, p. 2883–2899, 2018.

- ISMAIL-BEN ALI, A. *et al.* *Jania rubens*-associated bacteria: Molecular identification and antimicrobial activity. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 3, p. 525–534, 2012.
- IVANOVA, E. P. *et al.* *Bacillus algicola* sp. nov., a novel filamentous organism isolated from brown alga *Fucus evanescens*. **Systematic and applied microbiology**, v. 27, n. 3, p. 301–307, 2004.
- IVANOVA, E. P. *et al.* Two species of culturable bacteria associated with degradation of brown algae *Fucus evanescens*. **Microbial Ecology**, v. 43, n. 2, p. 242–249, 2002.
- IYAPPARAJ, P. *et al.* Antifouling and toxic properties of the bioactive metabolites from the seagrasses *Syringodium isoetifolium* and *Cymodocea serrulata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 103, n. 1, p. 54–60, 2014.
- JANAKIDEVI, V. *et al.* Antagonistic activity of seaweed associated bacteria against human pathogens. **Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci**, v. 2, n. 12, p. 140–147, 2013.
- JEGAN S; MANJUSHA W. Antagonistic, Antibacterial and Anticancer Activity of Marine Macroalgae-Associated Bacteria Collected from Kanyakumari coast. **European Journal of Molecular & Clinical Medicine**, v. 7, n. 11, p. 166–175, 2020.
- JENKE-KODAMA, H.; MÜLLER, R.; DITTMANN, E. Evolutionary mechanisms underlying secondary metabolite diversity. **Progress in Drug Research**, v. 65, p. 120–140, 2008.
- JOINT, I.; TAIT, K.; WHEELER, G. Cross-kingdom signalling: exploitation of bacterial quorum sensing molecules by the green seaweed *Ulva*. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 362, n. 1483, p. 1223–1233, 2007.
- KAARIA, P. *et al.* Antimicrobial Screening of Marine Endophytes and Epiphytes Isolated from Marine Algae of Kenyan Indian Ocean. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 70–74, 2015.
- KANAGASABHAPATHY, M. *et al.* Antibacterial activities of marine epibiotic bacteria isolated from brown algae of Japan. **Annals of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 167–173, 2006.
- KANAGASABHAPATHY, M. *et al.* Presence of quorum-sensing inhibitor-like compounds from bacteria isolated from the brown alga *Colpomenia sinuosa*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 573–579, 2009.
- KANAGASABHAPATHY, M.; SASAKI, H.; NAGATA, S. Phylogenetic identification of epibiotic bacteria possessing antimicrobial activities isolated from red algal species of Japan. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 10, p. 2315–2321, 2008.
- KEITH, S. A.; KERSWELL, A. P.; CONNOLLY, S. R. Global diversity of marine macroalgae: Environmental conditions explain less variation in the tropics. **Global Ecology and Biogeography**, v. 23, n. 5, p. 517–529, 2014.
- KHOSHNOOD, S. *et al.* A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 109, n. October 2018, p. 1809–1818, 2019.

- KIZHAKKEKALAM, V. K.; CHAKRABORTY, K. Marine macroalgae-associated heterotrophic Firmicutes and Gamma-proteobacteria: prospective anti-infective agents against multidrug resistant pathogens. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 4, p. 905–920, 2020.
- KIZHAKKEKALAM, V. K.; CHAKRABORTY, K. Pharmacological properties of marine macroalgae-associated heterotrophic bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 201, n. 4, p. 505–518, 2019.
- KIZHAKKEKALAM, V. K.; CHAKRABORTY, K. Seaweed-associated heterotrophic bacteria: new paradigm of prospective anti-infective and anticancer agents. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 3, p. 1241–1250, 2021.
- KOUZUMA, A.; WATANABE, K. Exploring the potential of algae/bacteria interactions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 33, p. 125–129, 2015.
- KUMAR, V. *et al.* Antidiatom and antibacterial activity of epiphytic bacteria isolated from *Ulva lactuca* in tropical waters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 7, p. 1543–1549, 2011.
- KUMAR, V. *et al.* Multiple opportunistic pathogens can cause bleaching disease of the red seaweed *Delisea pulchra* V. **Environmental microbiology**, v. 18, p. 3962–3975, 2016.
- LACHNIT, T. *et al.* Compounds associated with algal surfaces mediate epiphytic colonization of the marine macroalga *Fucus vesiculosus*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 84, n. 2, p. 411–420, 2013.
- LAGE, O. M.; GRAÇA, A. P. Biofilms: An Extra Coat on Macroalgae. **Algae - Organisms for Imminent Biotechnology**, 2016.
- LAM, C.; STANG, A.; HARDER, T. Planktonic bacteria and fungi are selectively eliminated by exposure to marine macroalgae in close proximity. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 63, n. 3, p. 283–291, 2008.
- LANARI, M. DE O.; COUTINHO, R. Reciprocal causality between marine macroalgal diversity and productivity in an upwelling area. **Oikos**, v. 123, n. 5, p. 630–640, 2014.
- LEAL, H. F. *et al.* Bloodstream infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: Epidemiological, clinical and microbiological features. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. 1–11, 2019.
- LEE, R. **Basic characteristics of the algae**. [s.l: s.n.].
- LEIVA, S. *et al.* Diversity of Pigmented Gram-Positive Bacteria Associated with Marine Macroalgae from Antarctica. **FEMS Microbiology Letters Advance**, v. 362, 2015.
- LEMOS, M. L.; TORANZO, A. E.; BARJA, J. L. Antibiotic activity of epiphytic bacteria isolated from intertidal seaweeds. **Microbial Ecology**, v. 11, n. 2, p. 149–163, 1985.
- LERESCHE, J. E.; MEYER, H. P. Chemocatalysis and biocatalysis (biotransformation): Some thoughts of a chemist and of a biotechnologist. **Organic Process Research and Development**, v. 10, n. 3, p. 572–580, 2006.
- LESSA, F. C. *et al.* Impact of USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on clinical outcomes of patients with pneumonia or central line-associated bloodstream infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 2, p. 232–241, 2012.

- MA, Y. *et al.* Inhibition of common fouling organisms in mariculture by epiphytic bacteria from the surfaces of seaweeds and invertebrates. **Acta Ecologica Sinica**, v. 29, n. 4, p. 222–226, 2009.
- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14^o ed. Porto Alegre: [s.n.].
- MANEFIELD, M. *et al.* Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. **Microbiology**, v. 145, n. 2, p. 283–291, 1999.
- MANEFIELD, M. *et al.* Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. **Microbiology**, v. 148, n. 4, p. 1119–1127, 2002.
- MARINHO-SORIANO, E. Historical context of commercial exploitation of seaweeds in Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 665–671, 2017.
- MARTÍNEZ-LARA, P. *et al.* Granulomatosis in fish aquaculture: a mini review. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 1, p. 259–268, 2021.
- MATSUO, Y. *et al.* Isolation of an Algal Morphogenesis. **Science**, v. 307, n. March, p. 1598, 2005.
- MAZZARIOL, A.; BAZAJ, A.; CORNAGLIA, G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. **Journal of Chemotherapy**, v. 29, p. 2–9, 2017.
- MENEZES, M. *et al.* Update of the Brazilian floristic list of Algae and Cyanobacteria. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1–16, 2015.
- MIAO, V. *et al.* Daptomycin biosynthesis in *Streptomyces roseosporus*: Cloning and analysis of the gene cluster and revision of peptide stereochemistry. **Microbiology**, v. 151, n. 5, p. 1507–1523, 2005.
- MIESZKIN, S.; CALLOW, M. E.; CALLOW, J. A. Interactions between microbial biofilms and marine fouling algae: a mini review. **Biofouling**, v. 29, n. 9, p. 1097–113, 2013.
- MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiol Spectr.**, v. 17, n. C, p. 119–127, 2016.
- MUÑOZ, J.; FOTEDAR, R. Epiphytism of *Gracilaria cliftonii* (Withell, Millar & Kraft) from Western Australia. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 3, p. 371–379, 2010.
- MUSCHOLL-SILBERHORN, A.; THIEL, V.; IMHOFF, J. F. Abundance and bioactivity of cultured sponge-associated bacteria from the Mediterranean Sea. **Microbial Ecology**, v. 55, n. 1, p. 94–106, 2008.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 8, p. 1216–1238, 2004.
- NYLUND, G. M.; PAVIA, H. Chemical versus mechanical inhibition of fouling in the red alga *Dilsea carnosa*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 299, p. 111–121, 2005.
- O'BRIEN, J.; WRIGHT, G. D. An ecological perspective of microbial secondary metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 552–558, 2011.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally. **REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE**, 2016.

OLIVEIRA, L. G. DE; PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C. Explorando Produtos Naturais Microbianos nas Fronteiras da Química e da Biologia. **Quim. Nova**, v. 36, n. 10, p. 1577–1586, 2013.

PARADAS, W. C. *et al.* Induction of halogenated vesicle transport in cells of the red seaweed *Laurencia obtusa*. **Biofouling**, v. 26, n. 3, p. 277–286, 2010.

PARROT, D. *et al.* Mapping the Surface Microbiome and Metabolome of Brown Seaweed *Fucus vesiculosus* by Amplicon Sequencing, Integrated Metabolomics and Imaging Techniques. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.

PATEL, P. *et al.* Specificity in the settlement - Modifying response of bacterial biofilms towards zoospores of the marine alga *Enteromorpha*. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 5, p. 338–349, 2003.

PAULO, B. S.; SIGRIST, R.; DE OLIVEIRA, L. G. Recent advances in combinatorial biosynthesis of polyketides: Perspectives and challenges. **Química Nova**, v. 42, n. 1, p. 71–83, 2019.

PENESYAN, A. *et al.* Antimicrobial activity observed among cultured marine epiphytic bacteria reflects their potential as a source of new drugs: Research article. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 69, n. 1, p. 113–124, 2009.

PEREIRA, R. C. *et al.* Ecological roles of natural products of the Brazilian red seaweed *Laurencia obtusa*. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 4, p. 665–672, 2003.

PEREIRA, R. DE S. Projeto e construção de um bioreator para síntese orgânica assimétrica catalisada por *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico de padaria). **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 551–554, 1997.

POORE, A. G. B. *et al.* Major consequences of minor damage: Impacts of small grazers on fast-growing kelps. **Oecologia**, v. 174, n. 3, p. 789–801, 2014.

PRADO, S. *et al.* Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of *Vibrio neptunius* as an oyster pathogen. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 67, n. 3, p. 209–215, 2005.

RAMANAN, R. *et al.* Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 1, p. 14–29, 2016.

RAO, D.; WEBB, J. S.; KJELLEBERG, S. Microbial Colonization and Competition on the Marine Alga *Ulva australis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 8, p. 5547–5555, 2006.

RAYNER, C.; MUNCKHOF, W. J. Rayner.2005.Staphaur-current-antibiotitreat.IMJ. **Internal medicine journal**, v. 35, n. 3, p. 1–16, 2005.

ROMERO, J.; GLORIA, C.; NAVARRETE, P. Antibiotics in Aquaculture – Use, Abuse and Alternatives. **Health and Environment in Aquaculture**, 2012.

ROMERO, M. *et al.* Quorum quenching in cultivable bacteria from dense marine coastal microbial communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 75, p. 205–217, 2011.

SCHULTZ, M. P. *et al.* Economic impact of biofouling on a naval surface ship. **Biofouling**, v. 27, n. 1, p. 87–98, 2011.

SEKUROVA, O. N.; SCHNEIDER, O.; ZOTCHEV, S. B. Novel bioactive natural products from bacteria via bioprospecting, genome mining and metabolic engineering. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 5, p. 828–844, 2019.

SILVA-ACIARES, F.; RIQUELME, C. Inhibition of attachment of some fouling diatoms and settlement of *Ulva lactuca* zoospores by film-forming bacterium and their extracellular products isolated from biofouled substrata in northern Chile. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 1, 2008.

SIMIONI, C.; HAYASHI, L.; OLIVEIRA, M. C. Seaweed resources of Brazil: What has changed in 20 years? **Botanica Marina**, v. 62, n. 5, p. 433–441, 2019.

SINGH, R. P. *et al.* Isolation of seaweed-associated bacteria and their morphogenesis-inducing capability in axenic cultures of the green alga *Ulva fasciata*. **Aquatic Biology**, v. 12, n. 1, p. 13–21, 2011.

SINGH, R. P.; KUMARI, P.; REDDY, C. R. K. Antimicrobial compounds from seaweeds-associated bacteria and fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 4, p. 1571–1586, 2015.

SINGH, R. P.; REDDY, C. R. K. Unraveling the functions of the macroalgal microbiome. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. JAN, p. 1–8, 2016.

SMITH, S.; TSAI, S. C. The type I fatty acid and polyketide synthases: A tale of two megasynthases. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 5, p. 1041–1072, 2007.

SPOERNER, M. *et al.* Growth and Thallus Morphogenesis of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) Depends on A Combination of Two Bacterial Species Excreting Regulatory Factors. **Journal of Phycology**, v. 48, n. 6, p. 1433–1447, 2012.

SRINIVASAN, R. *et al.* Marine Bacterial Secondary Metabolites : A Treasure House for Structurally Unique and Effective Antimicrobial Compounds. p. 1–36, 2021.

STEINBERG, P. D. *et al.* Interfaces between bacterial and eukaryotic “neuroecology”. **Integrative and Comparative Biology**, v. 51, n. 5, p. 794–806, 2011.

SUDATTI, D. B. *et al.* 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.

SULLIVAN, T.; REGAN, F. The characterization, replication and testing of dermal denticles of *Scyliorhinus canicula* for physical mechanisms of biofouling prevention. **Bioinspiration and Biomimetics**, v. 6, n. 4, 2011.

SWIFT, S. *et al.* **Quorum Sensing as a Population-Density- Dependent Determinant of Bacterial Physiology**. [s.l: s.n.]. v. 45

TANG, G. L.; CHENG, Y. Q.; SHEN, B. Polyketide chain skipping mechanism in the biosynthesis of the hybrid nonribosomal peptide-polyketide antitumor antibiotic leinamycin in *Streptomyces atroolivaceus* S-140. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 387–393, 2006.

TAVECHIO WLG; GUIDELLI G; POTTZ L. Alternativas Para a Prevenção E O Controle De Patógenos Em Piscicultura Alternatives for the Prevention and Control of

- Pathogens in Fish Farming. **B. Inst. Pesca**, v. 25, n. 2, p. 335–341, 2009.
- TEASDALE, M. E. *et al.* Secondary metabolites produced by the marine bacterium *Halobacillus salinus* that inhibit quorum sensing-controlled phenotypes in Gram-negative bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 3, p. 567–572, 2009.
- THILAKAN, B.; CHAKRABORTY, K.; CHAKRABORTY, R. D. Antimicrobial properties of cultivable bacteria associated with seaweeds in the Gulf of Mannar on the southeast coast of India. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 62, n. 8, p. 668–681, 2016.
- THIRUMURUGAN, D. *et al.* Isolation, structure elucidation and antibacterial activity of methyl-4,8-dimethylundecanate from the marine actinobacterium *Streptomyces albogriseolus* ECR64. **Microbial Pathogenesis**, v. 121, n. May, p. 166–172, 2018.
- THOMS, C.; SCHUPP, P. Biotechnological Potential of Marine Sponges and their Associated Bacteria as Producers of New Pharmaceuticals (Part II). **Journal of International Biotechnology Law**, v. 2, n. 6, p. 257–264, 2005.
- TRZOSS, L. *et al.* Seriniquinone, a selective anticancer agent, induces cell death by autophagocytosis, targeting the cancer-protective protein dermcidin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 41, p. 14687–14692, 2014.
- TYC, O. *et al.* The Ecological Role of Volatile and Soluble Secondary Metabolites Produced by Soil Bacteria. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 4, p. 280–292, 2017.
- VAN WEZEL, A. P.; VAN VLAARDINGEN, P. Environmental risk limits for antifouling substances. **Aquatic Toxicology**, v. 66, n. 4, p. 427–444, 2004.
- VEZZULLI, L.; COLWELL, R. R.; PRUZZO, C. Ocean Warming and Spread of Pathogenic Vibrios in the Aquatic Environment. **Microbial Ecology**, v. 65, n. 4, p. 817–825, 2013.
- WAGENINGEN, V. *et al.* Sequencing and analysis of genes involved in the biosynthesis of a vancomycin group antibiotic. **Chemistry and Biology**, v. 5, p. 155–62, 1998.
- WALTERS, L. J.; HADFIELD, M. G.; SMITH, C. M. Waterborne chemical compounds in tropical macroalgae: positive and negative cues for larval settlement. **Marine Biology**, v. 126, n. 3, p. 383–393, 1996.
- WANG, G. *et al.* Phylogenetic analysis of epiphytic marine bacteria on Hole-Rotten diseased sporophytes of *Laminaria japonica*. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 4, p. 403–409, 2008.
- WANG, H. *et al.* Atlas of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic pathways reveals common occurrence of nonmodular enzymes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 25, p. 9259–9264, 2014.
- WANG, K. L. *et al.* Mini-review: Antifouling natural products from marine microorganisms and their synthetic analogs. **Marine Drugs**, v. 15, n. 9, p. 1–21, 2017.
- WANG, Q. *et al.* LuxO controls extracellular protease, haemolytic activities and siderophore production in fish pathogen *Vibrio alginolyticus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 5, p. 1525–1534, 2007.

- WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 21, p. 319–346, 2005.
- WEINBERGER, F.; FRIEDLANDER, M. Response of *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) to oligoagars results in defense against agar-degrading epiphytes. **Journal of Phycology**, v. 36, n. 6, p. 1079–1086, 2000.
- WEINBERGER, F.; HOPPE, H. G.; FRIEDLANDER, M. Bacterial induction and inhibition of a fast necrotic response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 3, p. 277–285, 1997.
- WIESE, J. *et al.* Diversity of antibiotic-active bacteria associated with the brown alga *Laminaria saccharina* from the baltic sea. **Marine Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 287–300, 2009.
- WILKINS, K.; SCHÖLLER, C. Volatile Organic Metabolites from Selected *Streptomyces* Strains. **Actinomycetologica**, v. 23, n. 2, p. 27–33, 2009.
- WORTHINGTON, R. J.; RICHARDS, J. J.; MELANDER, C. Small molecule control of bacterial biofilms. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 10, n. 37, p. 7457, 2012.
- YAMASAKI, T.; MIYAZAKI, Y.; KAMEI, Y. Isolation of bacteria that decompose major polysaccharides in the cell wall of the marine red alga *Porphyra yezoensis* and their application for protoplast production. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 789–794, 1998.
- YEBRA, D. M. *et al.* Presence and effects of marine microbial biofilms on biocide-based antifouling paints. **Biofouling**, v. 22, n. 1–2, p. 33–41, 2006.
- ZHOU, X. Brief overview of world aquaculture production, an update with latest available 2018 global production data. **FAO Aquaculture Newsletter**, v. 61, p. 5–6, 2020.
- ZIESCHE, L. *et al.* Homoserine Lactones, Methyl Oligohydroxybutyrates, and Other Extracellular Metabolites of Macroalgae-Associated Bacteria of the Roseobacter Clade: Identification and Functions. **ChemBioChem**, v. 16, n. 14, p. 2094–2107, 2015.

CAPÍTULO 2: POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MACROALGAS MARINHAS DO MUNICÍPIO DE ARRAIAL DO CABO – RJ.

2.1. INTRODUÇÃO

As macroalgas são organismos eucariontes, fotossintetizantes e pluricelulares, divididas em três filos principais, Chlorophyta, Rhodophyta e Ochrophyta (LEE, 2008). São importantes produtores primários que fornecem abrigo e alimento para diversos organismos, ocupando assim um importante papel na teia trófica marinha (LANARI; COUTINHO, 2014; EGGERTSEN *et al.*, 2017). Os microrganismos desempenham um papel crucial na saúde, funcionamento e desenvolvimento das macroalgas durante os vários estágios do ciclo de vida do hospedeiro por meio de interações mutualísticas (WAHL *et al.*, 2012; EGAN *et al.*, 2013). As bactérias apresentam forte interação com as macroalgas, sendo em muitos casos espécie específica (CHEN; PARFREY, 2018). Certas bactérias associadas às algas, como as pertencentes ao gênero *Streptomyces*, por exemplo, podem desempenhar um papel nas estratégias de defesa do hospedeiro contra outros microrganismos indesejáveis e também contra a macroincrustação biológica, secretando produtos químicos antibióticos e anti-incrustantes, mantendo assim a saúde do hospedeiro (EGAN; HOLMSTRÖM; KJELLEBERG, 2001; DOBRETSOV; QIAN, 2002; GOECKE *et al.*, 2010; CHO; KIM, 2012).

Estudos recentes mostram que as macroalgas podem ser reservatórios de microrganismos que produzem moléculas bioativas de interesse biotecnológico, como enzimas (COMBA GONZÁLEZ *et al.*, 2018), biosurfactantes (JAVEE; KARUPPAN; SUBRAMANI, 2020), e substâncias com atividade antibacteriana (KIZHAKKEPATT KIZHAKKEKALAM; CHAKRABORTY; JOY, 2020), antifúngica (CHAKRABORTY; THILAKAN; RAOLA, 2014), antibiofilme (SAYEM *et al.*, 2011), entre outras. Atualmente produtos obtidos de bactérias como antibióticos (estreptomicina) e bacteriocinas (Nisin ZP), são amplamente utilizados na indústria farmacêutica e alimentícia, respectivamente (DE LIMA PROCÓPIO *et al.*, 2012; MATHUR *et al.*, 2017; O'CONNOR *et al.*, 2020; SRINIVASAN *et al.*, 2021). Alguns microrganismos podem ser mais facilmente modificados geneticamente e quimicamente, de modo a aumentar o rendimento dos compostos e sua bioatividade (HUG; KRUG; MÜLLER, 2020; SEKUROVA; SCHNEIDER; ZOTCHEV, 2019). Com o aprimoramento das técnicas de

biologia molecular, as pesquisas nesta área têm se expandido nos últimos anos (GOECKE *et al.*, 2010).

Há um crescente interesse em se pesquisar novas substâncias antimicrobianas devido à resistência adquirida pelos microrganismos patogênicos aos antibióticos tradicionais (VIKESLAND *et al.*, 2019). Atualmente, a resistência aos antimicrobianos é uma das maiores ameaças que a humanidade enfrenta no século XXI e, estima-se que até o ano de 2050 essa resistência causará aproximadamente 300 milhões de mortes prematuras no mundo (O'NEILL, 2016). Um exemplo é a bactéria *Staphylococcus aureus*, um patógeno que pode causar diversas infecções e doenças, cuja resistência à penicilina alcança quase 100 % das estirpes hospitalares na maioria dos países, incluindo no Brasil (MARTINS; CUNHA, 2007; FOSTER, 2017). Nesse contexto, os estudos no ambiente marinho apresentam um grande potencial para a descoberta de novas classes de antibióticos capazes de agir efetivamente sobre linhagens patogênicas multirresistentes (MALVE, 2016; ROTTER *et al.*, 2021).

Os ecossistemas marinhos do município de Arraial do Cabo (22°57'58"S 42°01'44"O) hospedam comunidades microbianas únicas e altamente diversificadas (CURY *et al.*, 2011; COELHO-SOUZA *et al.*, 2015). Análises metagenômicas feitas nessa região já demonstraram haver potencial biotecnológico dos microrganismos para a síntese de novos compostos naturais (CUADRAT; CURY; DÁVILA, 2015). Essa região está sazonalmente sob a influência da ressurgência pela Água Central do Atlântico Sul, com flutuações de temperatura, nutrientes e bacterioplâncton devido a mudanças nos padrões de vento, correntes e à geomorfologia costeira (VALENTIN, 1984; CIRANO *et al.*, 2006; CALADO *et al.*, 2020), fatores estes que contribuem para uma grande diversidade biológica (DE PAULA *et al.*, 2020), e beneficiam o desenvolvimento da economia local (MENDONÇA; MORAES; COSTA, 2013). Estima-se que existam mais de 300 espécies de macroalgas na região, sendo 20 delas endêmicas (YONESHIGUE-VALENTIN *et al.*, 2020).

Apesar da grande quantidade de estudos relacionados aos potenciais produtos naturais de macroalgas provenientes de Arraial do Cabo (DA GAMA *et al.*, 2008; BATISTA *et al.*, 2014; SUDATTI *et al.*, 2020), o potencial biotecnológico das bactérias associadas a elas necessita ainda ser explorados. Desta maneira, o objetivo do

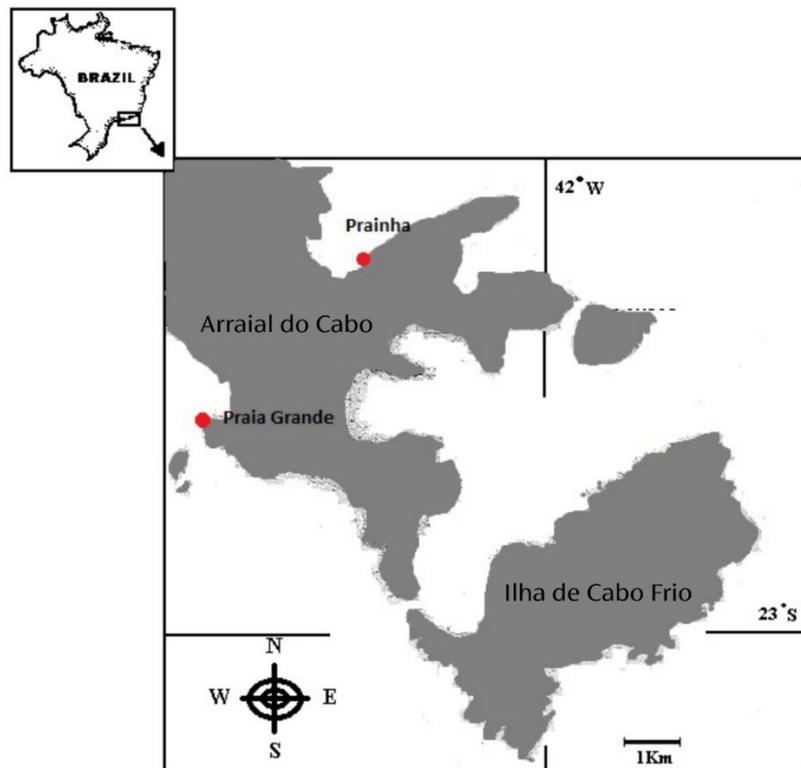
presente trabalho foi investigar a ação antibacteriana de bactérias associadas às macroalgas marinhas do município de Arraial do Cabo.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1. Coleta de macroalgas e isolamento das bactérias

As macroalgas utilizadas neste estudo foram coletadas em dois costões rochosos distintos localizados no município de Arraial do Cabo, Região dos Lagos do estado do Rio de Janeiro. Três espécimes de cada uma das seguintes espécies de macroalgas foram coletadas: *Colpomenia sinuosa* (Mertens ex Roth) Derbès & Solier (Ochrophyta, Ectocarpales) e *Sargassum vulgare* C. Agardh (Ochrophyta, Fucales) na Prainha (22°57'41''S 42°01'14''W) em outubro de 2017; e *Pterocliadiella capillacea* (S.G.Gmelin) Santelices & Hommersand (Rhodophyta, Gelidiales) e *Ulva* sp. (Chlorophyta, Ulvales) na Praia Grande (22°58'36''S 42°02'06''W) em junho 2018 (Figura 6). As macroalgas foram coletadas na faixa do infralitoral dos costões rochosos durante a maré baixa. Os locais de amostragem são caracterizados por condições tropicais com baixa precipitação anual, e influenciados pela ressurgência de águas frias e ricas em nutrientes, fenômeno oceanográfico associado com o regime de ventos locais, a batimetria e a sazonalidade (YONESHIGUE, 1985; DE GUIMARAENS; COUTINHO, 1996). A Praia Grande recebe diretamente as águas frias e ricas em nutrientes que ressurgem do fundo, já a Prainha está localizada em uma baía e não recebe influência direta da ressurgência, apresentando, assim, água com maiores valores de temperatura (BATISTA *et al.*, 2017).

Figura 6 - Locais de amostragem para a coleta de espécies de macroalgas de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: próprio autor

As macroalgas foram coletadas com o auxílio de uma espátula estéril, transferidas para sacos herméticos também estéreis (Figura 7), e transportadas para o laboratório em caixas térmicas para evitar grandes variações de temperatura. As amostras foram triadas e sua superfície foi lavada três vezes com água do mar estéril para remover microrganismos não associados.

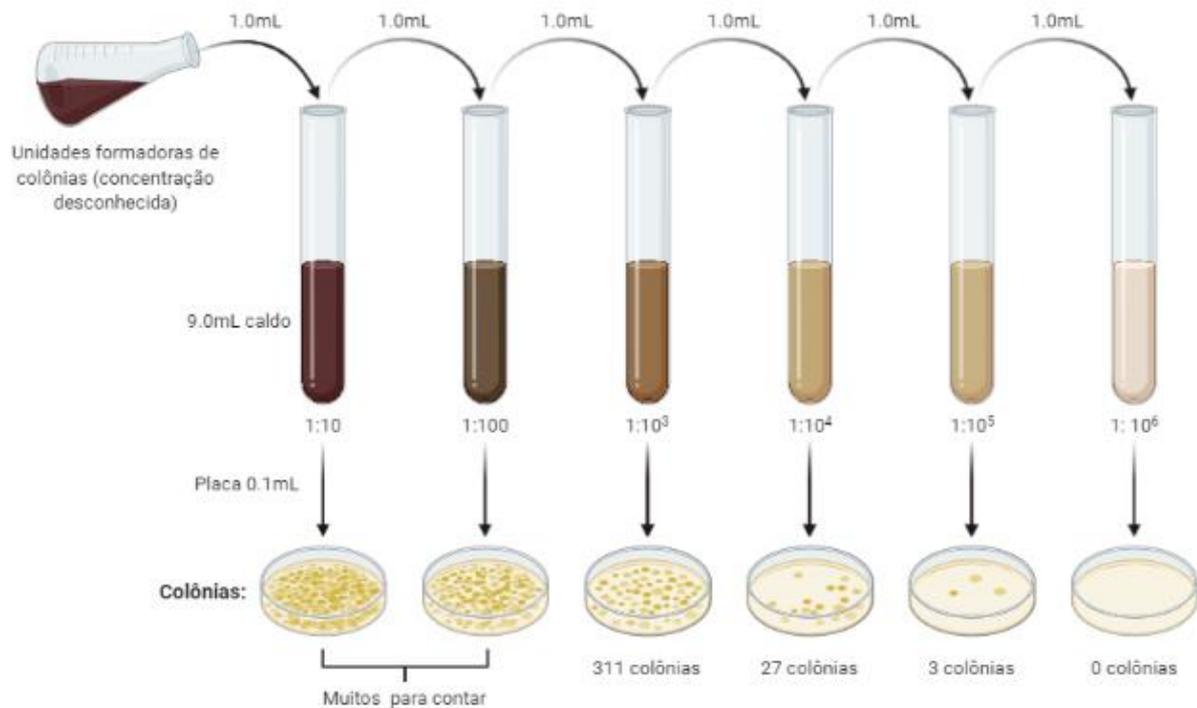
Figura 7 - Coleta das macroalgas no costão rochoso da Praia Grande, Arraial do Cabo/RJ, em junho de 2018.



Fonte: próprio autor

Para realizar o isolamento das bactérias associadas, um pedaço da macroalga (aproximadamente 1 g) foi macerado em 25 mL de solução salina estéril (3 % NaCl em água destilada) em temperatura ambiente (25 ± 2 °C), para cada espécime coletada. Diluições seriadas foram feitas a partir desse macerado e alíquotas nas diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} (Figura 8) foram plaqueadas em cada um dos meios de crescimento: Ágar *Marine* 2216 e Ágar de Infusão Cérebro-Coração (BHI), ambos suplementados com Anfotericina B (1 µg/mL) para inibir o crescimento de fungos, e incubados por até três dias em temperatura ambiente (± 25 °C).

Figura 8: Diluição seriada feita a partir dos macerados de macroalgas.



Cálculo: Número de colônias na placa x recíproco de diluição da amostra = número de bactérias / mL

Example: 311 colonies x 10³ = 3.11 x 10⁵ CFU/mL in sample

Fonte: biorender

As colônias bacterianas foram examinadas diariamente, por cinco dias, quanto ao crescimento e à morfologia. Os morfotipos foram selecionados de acordo com a cor, tamanho, brilho, opacidade e translucidez das colônias. Posteriormente, cada morfotipo foi repicado duas vezes em cada meio de cultura para se obter culturas puras (Figura 9). As culturas de bactérias foram consideradas puras quando observado apenas um morfotipo de colônia crescendo em uma placa de cultura. As bactérias purificadas foram preservadas em uma solução contendo (30 % de glicerol puro e 70 % da cultura de bactérias ressuspendidas em meio líquido), e mantidas a -20 °C. As cepas foram nomeadas com a inicial da espécie de macroalgas da qual foram isoladas, seguindo a ordem de isolamento das unidades formadoras de colônias (UFCs).

Figura 9 - Bactérias estriadas em meio de cultura para obtenção de culturas puras.



Fonte: próprio autor

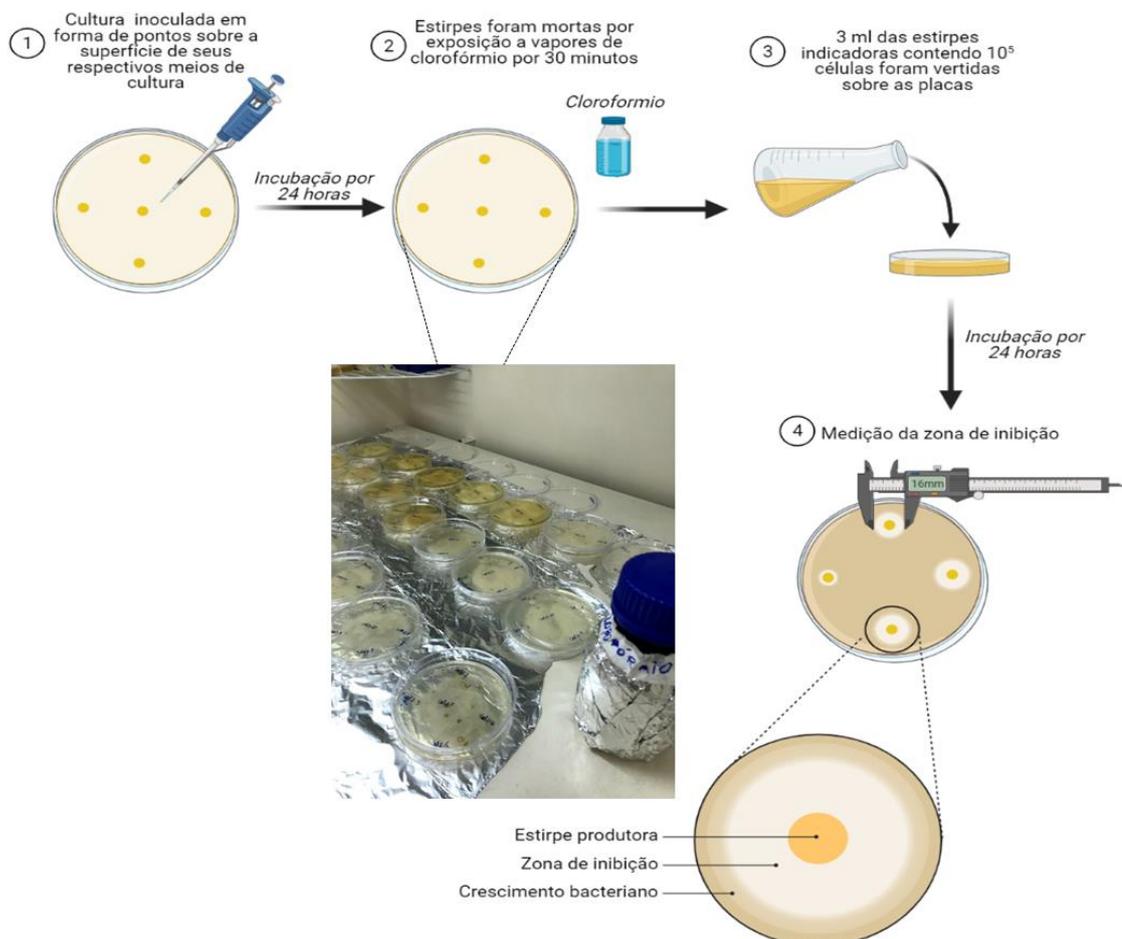
2.2.2. Atividade antibacteriana

Para avaliar a produção de substâncias antimicrobianas das estirpes isoladas, foram realizados testes utilizando dez cepas de bactérias indicadoras, quatro delas relacionadas com a incrustação marinha (*Pseudoalteromonas elyakovii*, *Polaribacter irgensii*, *Pseudomonas fluorescens* e *Shewanella putrefaciens*) (BRESSY *et al.*, 2014) (cedidas da universidade de Portsmouth pela Dra. Claire Hellio), três patogênicas do ambiente marinho (*Vibrio communis*, *V. alginolyticus* e *V. coralliilyticus*) (TERRA, 2016) (cedidas da Unversidade Federal do Rio de Janeiro pelo Dr. Fabiano Thompson) e três cepas de importância médica (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) (YE *et al.*, 2015) (cedidas da Universidade Federal do Rio de Janeiro pela Dra. Marinella Laport). As cepas indicadoras marinhas foram cultivadas em meio *Marine* (Difco 2216) a 30 °C por 18 h, e as cepas de importância médica foram cultivadas em meio BHI a 37 °C por 18 h.

O ensaio para a produção de substâncias antimicrobianas foi realizado em duplicata, conforme descrito anteriormente por MARINHO e colaboradores (2009). As estirpes isoladas foram cultivadas em seus respectivos meios de isolamento (caldo BHI e *Marine*) à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 24 a 48 h. Após o crescimento de cada estirpe, uma alíquota ($\cong 10$ μ L) de cada cultura foi inoculada em forma de

pontos sobre a superfície de seus respectivos meios de cultura e mantida à temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) por 24 a 48 h. Em seguida, as estirpes foram mortas por exposição a vapores de clorofórmio por 30 minutos, e mantidas à temperatura ambiente por mais 30 minutos, a fim de que o restante do clorofórmio fosse evaporado. Posteriormente foram vertidas sobre as placas, 3 mL das estirpes indicadoras contendo 10^5 células em seus respectivos meios semissólidos (BHI para as de interesse médico e *Marine* para todas as outras). As placas foram incubadas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h, ou $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h para as indicadoras marinhas, e as zonas de inibição ao redor das cepas foram medidas (Figura 10). A atividade antibacteriana foi definida por zonas claras ao redor das bactérias investigadas quanto a produção de substância antibacteriana. Os isolados bacterianos que mostraram atividade antibacteriana contra bactérias indicadoras foram escolhidos para posterior identificação molecular com base na sequência do gene codificador do RNA ribossômico 16S (RNAr 16S).

Figura 10: Esquema do experimento de atividade antibacteriana das estirpes isoladas das macroalgas.



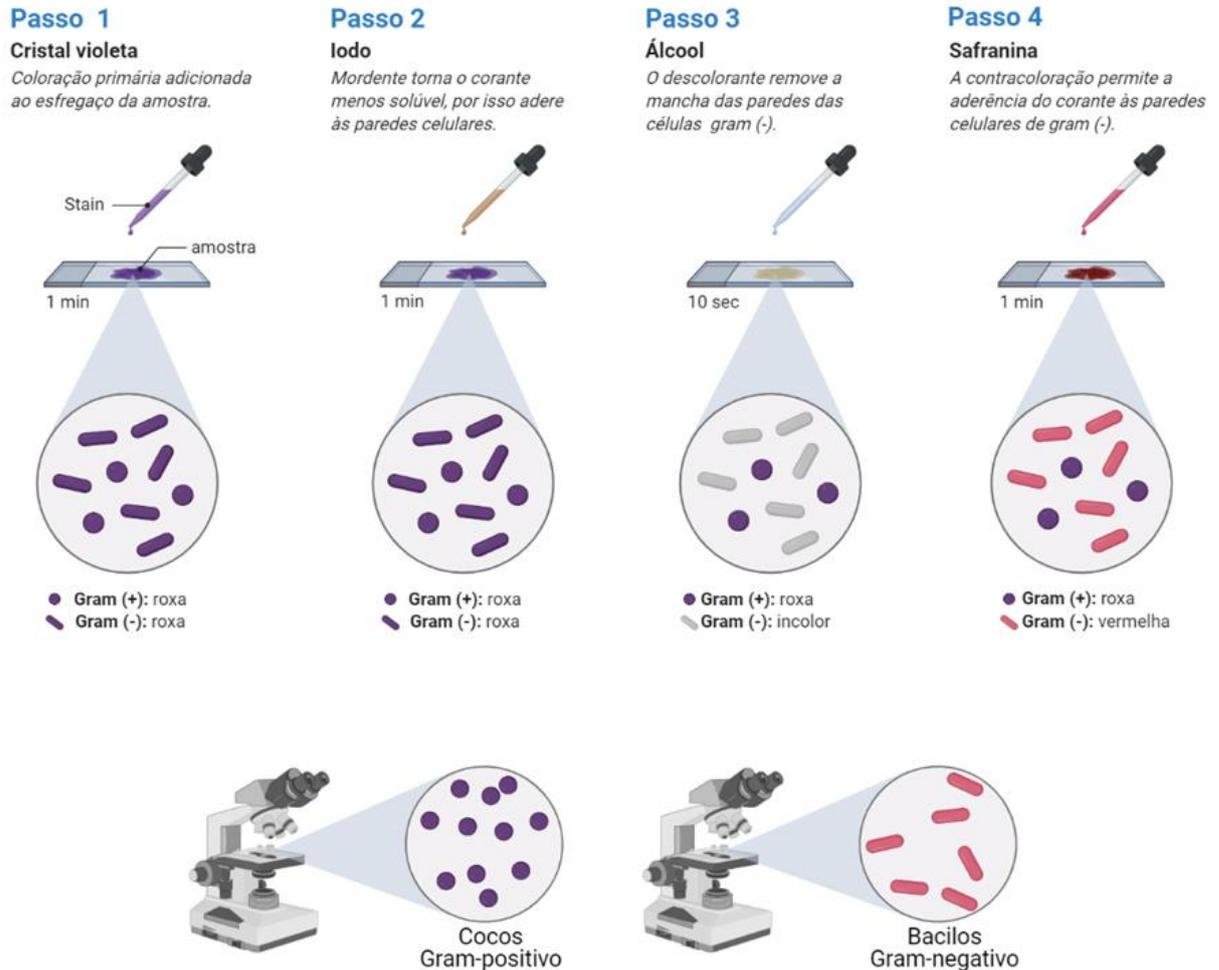
Fonte: Biorender

2.2.3. Caracterização morfológica das estirpes com atividade antibacteriana

As estirpes isoladas que apresentaram atividade contra as cepas indicadoras foram caracterizadas de acordo com os aspectos como coloração da colônia, morfologia da célula e aspecto morfológico.

A caracterização do aspecto morfológico das estirpes isoladas foi feita através da coloração de Gram, com o Kit de coloração (NEWPROV). Para isso, uma colônia bacteriana foi transferida para uma lâmina de vidro onde foi acrescentada uma gota de solução salina para facilitar a homogeneização. Para fixação, a lâmina foi passada rapidamente pela chama do bico de Bunsen. Posteriormente, a lâmina foi coberta com o corante cristal violeta por cerca de 1 minuto, lavada com um filete de água corrente e coberta novamente com o lugol, que tem como objetivo fixar o corante azul, por 1 minuto. Em seguida, a lâmina foi lavada com água corrente e aplicada uma solução de álcool a 95 %, por 30 segundos. Depois, foi novamente lavada em água corrente e coberta com o segundo corante, a fucsina, por 30 segundos (Figura 11). Depois da lâmina seca, uma gota de óleo de imersão foi adicionada e a lâmina observada no microscópio óptico com objetiva de 100 x. As estirpes foram, então, caracterizadas quanto ao tipo de sua parede celular (Gram-positiva ou Gram-negativa), e morfologia da célula.

Figura 11: Esquema do protocolo de coloração de Gram.



Fonte: Biorender

2.2.4. Identificação molecular das estirpes com atividade antibacteriana

As estirpes isoladas que apresentaram atividade contra as cepas indicadoras foram identificadas molecularmente baseando-se no sequenciamento parcial do gene codificador do RNAr 16S.

2.2.4.1. *Extração do DNA*

Para a extração do DNA genômico, cada estirpe foi repicada em seus respectivos meios de cultura e, após dois dias do crescimento, as células já estavam prontas para a extração. O genoma total foi extraído com Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega). Resumidamente, 600 µL de culturas líquidas foram centrifugadas por 2 min a 14, 000 x g em temperatura ambiente ($\cong 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) e o sobrenadante descartado. Seiscentos microlitros da solução de lise foram adicionados

a cada pellet e incubados a 80 °C por 5 min em banho-maria. Após a incubação, 3 µL de solução de RNase foram adicionados e incubados a 37 °C por 60 min. À temperatura ambiente, 200 µL de solução de precipitação de proteína foram adicionados, agitados em vórtex por 20 segundos, incubados em gelo por 5 min e centrifugados por 3 min a 13.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo estéril e um volume de isopropanol foi adicionado e misturado suavemente. Após 5 min de incubação à temperatura ambiente, a mistura foi centrifugada a 14, 000 x g durante 2 min. O DNA precipitado foi lavado com etanol 70 % gelado, ressuspendido em 50 µL de água ultrapura e armazenado a 4 °C.

2.2.4.2. Quantificação de DNA

Para determinar a quantidade e a qualidade do DNA extraído, uma alíquota de cada amostra (1 µL) foi analisada através da leitura de absorvância usando o espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). As razões 260/280 e 260/230 nm foram utilizadas para avaliar a pureza do DNA extraído, sendo a leitura a 280 nm utilizada para a detecção de uma eventual contaminação da amostra por proteínas e a leitura a 230 nm para avaliar a contaminação por compostos fenólicos, guanidina ou carboidratos. A quantificação do DNA foi fornecida em ng/µL. Após sua quantificação, o DNA extraído foi armazenado em tubos de polipropileno e mantido à temperatura de - 20 °C.

2.2.4.3. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Após a extração de DNA, o gene RNAr 16S foi amplificado por PCR usando os primers universais 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') e 1492R (5'TACGGTTAACCTTGTTACGACTT-3') (WEISBURG *et al.*, 1991). A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada de acordo com (SUSILOWATI; SABDONO; WIDOWATI, 2015). A reação de PCR em 25 µL de volume consistiu em GoTaq®Green Master Mix Promega 2X (12,5 µL), primer 27F 10 µM (1 µL), primer 1492R 10 µM (1 µL), DNA molde 15-25 ng (3 µL) e água ultrapura (7,5 µL). Todas as PCRs foram preparadas a 4 °C e os controles negativos preparados com água ultrapura no lugar do DNA, para a validação dos experimentos. A reação de PCR foi realizada com o termociclador modelo Veriti™ 96-Well (ThermoFischer Scientific) usando as seguintes condições de ciclagem: desnaturação inicial a 95 °C por 3 min,

seguida por 30 ciclos de desnaturação a 95 °C por 1 min, anelamento a 55 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 1 min. Uma extensão final foi realizada a 72 °C por 7 min.

2.2.4.4. *Eletroforese em gel de agarose, purificação dos produtos de PCR e sequenciamento*

Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose para verificar a amplificação correta dos fragmentos. O gel de agarose a 1 % foi preparado em tampão TBE 1X, onde 2 µL de cada reação foram misturados a 1 µL de Gel Red (500X diluído). As corridas em gel de agarose foram realizadas a 80 V, durante 40 minutos em cuba de eletroforese com o tampão TBE 1X. Posteriormente, o gel foi observado com E-Gel™ Imager UV Light Base (ThermoFisher Scientific). O produto da PCR foi purificado com AxyPrep PCR Cleanup Kit (Axygen Bioscience) de acordo com as instruções do fabricante e enviado para sequenciamento pelo método Sanger na Plataforma de sequenciamento do Laboratório Central do Centro de Ciências Biológicas (LABCEN/CCB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.2.4.5. *Edição e análise das sequências*

Os dados originados pelo sequenciamento foram editados manualmente com o programa BioEdit (versão 7.2.5). Os picos dos eletroferogramas foram avaliados e as porções iniciais e finais das sequências foram removidas por possuírem baixa qualidade, na maioria das vezes. As sequências consenso foram criadas pela sobreposição da sequência direta com o complemento reverso da sequência reversa, onde também foi feita a correção manual em alguns casos de bases duvidosas. As sequências foram exportadas do programa sob o formato FASTA.

As sequências de nucleotídeos obtidas, com tamanhos em torno de 1400pb, foram comparadas com as sequências do banco de dados público mundial GenBank (disponível no endereço eletrônico www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST), com o uso da ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tools) (ALTSCHUL *et al.*, 1997). Posteriormente, as sequências consenso criadas para cada amostra foram depositadas no GenBank sob os números de acesso MT764931 - MT764941.

2.2.5. Análise filogenética do Gene RNA Ribossomal 16s

Análises filogenéticas e evolutivas moleculares foram conduzidas usando o programa MEGA versão X (KUMAR *et al.*, 2018). As sequências geradas no estudo e

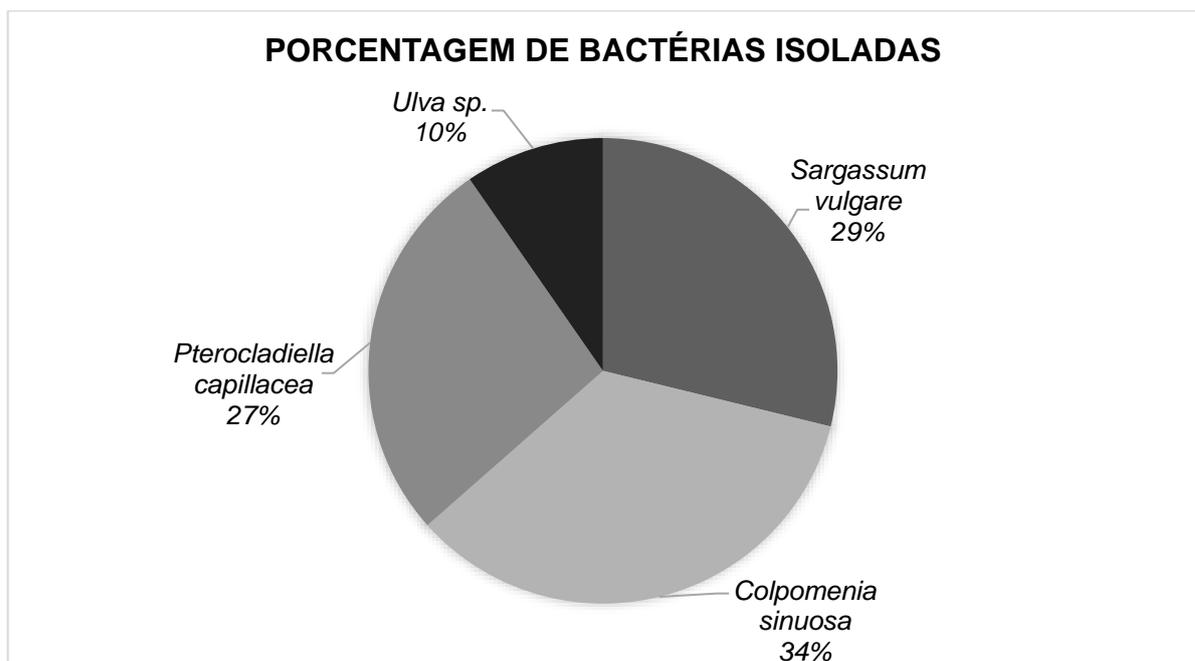
as sequências das espécies tipo, retiradas do banco de dados públicos, foram alinhadas com o programa CLUSTAL W (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994). Através do programa MEGA, as matrizes de similaridade e as árvores filogenéticas foram calculadas e construídas com o modelo evolutivo Kimura 2-parâmetros (KIMURA, 1980). Para a construção da topologia das árvores foi utilizado o método de distância gênica “*Neighbor-Joining*” (SAITOU; NEI, 1987). Além disso, a robustez de cada topologia foi corroborada através da adição de 1000 réplicas de “*Bootstrap*” (FELSENSTEIN, 1985).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Isolamento das bactérias

Foram isoladas no total, 61 estirpes de bactérias associadas às quatro espécies de macroalgas marinhas, sendo 34 % (n = 19) estirpes isoladas de *Colpomenia sinuosa* coletada na Prainha, 27 % (n = 18) isoladas de *Pterocliadiella capillacea* coletada na Praia Grande, 29 % (n = 17) estirpes isoladas de *Sargassum vulgare* coletada na Prainha, e 10 % (n = 7) isoladas de *Ulva sp.* coletada na Praia Grande (Figura 12).

Figura 12 - Porcentagem de bactérias isoladas de cada espécie de macroalga utilizada neste estudo.



Fonte: próprio autor

Quanto aos dois meios de cultura utilizados (BHI e *Marine*), não houve diferença considerável entre o número total de estirpes isoladas, pois 31 estirpes foram obtidas a partir do meio BHI e 30 do meio *Marine*. Dentre as 61 UFC isoladas, 52 permaneceram viáveis após alguns repiques nos meios.

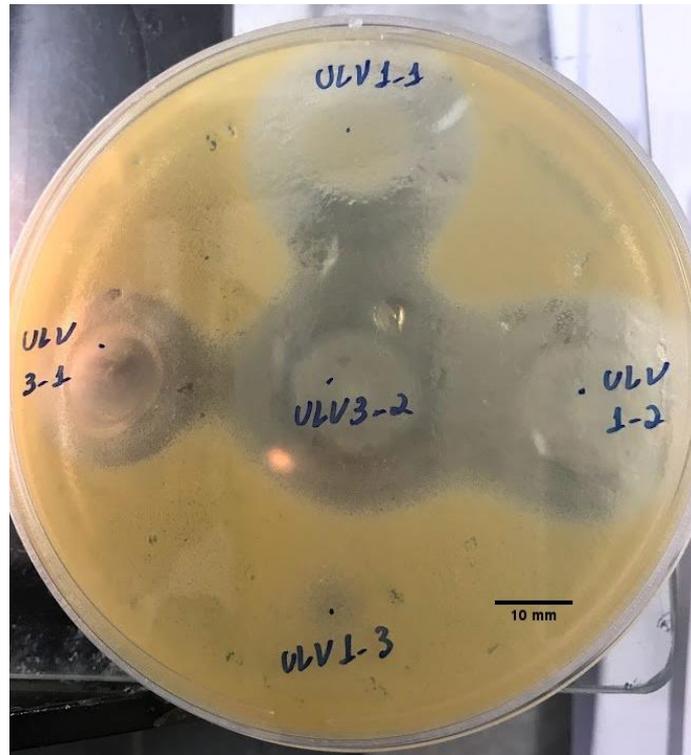
2.3.2. Atividade antibacteriana

De todos os isolados bacterianos obtidos, 58 % (n = 30) demonstraram atividade antimicrobiana contra pelo menos uma cepa indicadora usada neste estudo (Tabela 3). Em geral, as estirpes isoladas em meio BHI foram mais ativas do que aquelas isoladas em meio *Marine*. As estirpes isoladas das macroalgas *S. vulgare* e *C. sinuosa* foram as mais eficientes em inibir o maior número de indicadores testados. As estirpes mais ativas foram SAR3-6, que inibiu o crescimento de 7 das 10 estirpes de bactérias indicadoras testadas, seguido por SAR2-5 e COL3-4, ambas inibindo 6 de 10 estirpes indicadoras. As estirpes ULV3-1 e ULV3-2, isoladas da macroalga *Ulva* sp., apresentaram excelente atividade, como halos de inibição de 22 mm e 30 mm, respectivamente, contra a bactéria indicadora de interesse médico *S. aureus* (Figura 13).

Tabela 3 - Resumo do perfil de atividade antibacteriana das estirpes associadas às quatro espécies de macroalgas. *Estirpes exibindo atividade antibacteriana contra quatro ou mais linhagens de bactérias indicadoras.

Espécies de Macroalgas	Total de estirpes isoladas	Número de estirpes ativas	Número de estirpes altamente ativas*	Código das estirpes altamente ativas
<i>Colpomenia sinuosa</i>	18	13	4	COL1-8, COL1-9, COL3-2, COL3-4
<i>Sargassum vulgare</i>	15	10	6	SAR2-5, SAR3-8, SAR2-1, SAR3-5, SAR3-6, SAR3-7
<i>Pterocladia capillacea</i>	14	5	0	-
<i>Ulva</i> sp.	5	2	1	ULV3-2
TOTAL	52	30	11	

Figura 13 - Teste de sobreposição das cepas isoladas de *Ulva* sp contra *S. aureus*. As zonas de inibição, zonas claras exibidas ao redor dos isolados bacterianos, indicam a atividade antibacteriana.



Fonte: próprio autor

As cepas indicadoras *P. elyakovii* e *V. alginolyticus* foram as mais suscetíveis à atividade inibitória de estirpes obtidas de espécies de macroalgas, enquanto as cepas *S. putrefaciens* e *E. coli* foram as mais resistentes às estirpes isoladas. A cepa indicadora *E. coli* foi inibida por apenas três estirpes isoladas da macroalga *C. sinuosa*, enquanto que a indicadora *S. putrefaciens* só foi inibida por duas estirpes de *S. vulgare* e uma de *P. capillacea*. A indicadora de interesse médico *P. aeruginosa* foi inibida por estirpes isoladas de *S. vulgare*, *C. sinuosa* e *Ulva* sp. Apenas 22 das 52 cepas isoladas não foram ativas contra nenhuma das cepas indicadoras testadas (Tabela 4).

As estirpes selecionadas para a identificação molecular foram aquelas capazes de inibir o crescimento de pelo menos quatro cepas indicadoras utilizadas neste estudo, conforme indicado na Tabela 4. As estirpes ULV 3-2, SAR 2-1, SAR 3-5, SAR 3-6, SAR 3-7, COL 1-9, COL 1-8, COL 3-2 e COL 3-4, isoladas em meio BHI, e SAR 3-8 e SAR 2-5 isoladas em meio *Marine*, foram selecionadas para a identificação molecular.

Continuação		Cepas Indicadoras									
		Bioincrustantes				Patógenos Marinhos			Importância médica		
Estirpes		<i>P. fluorescens</i>	<i>P. irgensii</i>	<i>P. eiyakovii</i>	<i>S. putrefaciens</i>	<i>V. communis</i>	<i>V. coralliilyticus</i>	<i>V. alginolyticus.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
		BHI	SAR 2-1	+	-	+	-	-	+	-	+
SAR 2-4	-		-	+	-	-	+	-	-	-	+
SAR 3-5	+		-	+	-	+	+	-	+	-	+
SAR 3-6	+		-	++	-	+	+	+	+	-	+
SAR 3-7	-		-	+	-	-	+	+	+	-	+
COL 1-8	-		-	+	-	-	+	-	+	-	+
COL 1-9	+		-	+	-	-	-	-	+	-	+
COL 2-5	-		+	-	-	-	-	+	-	-	-
COL 2-6	++		+	-	-	-	-	-	+	-	-
COL 2-7	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
COL 3-1	-		+	+	-	-	-	-	-	-	+
COL 3-2	-		+	+	-	-	+	-	-	-	+
COL 3-4	+		+	+	-	+	+	-	-	-	+
PTE 1-1	-		-	-	-	-	-	-	+	-	-
PTE 2-1	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTE 2-2	+		-	+	-	+	-	-	-	-	-
PTE 3-1	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTE 3-2	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTE 3-5	-		-	-	-	-	-	+	++	-	-
ULV 1-3	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
ULV 3-1	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+	
ULV 3-2	-	+	+	-	-	-	+	+++	-	+	

2.3.3. Caracterização morfotintorial das estirpes com atividade antibacteriana

As 11 estirpes que foram mais ativas no ensaio de atividade antibacteriana foram caracterizadas quanto à composição da parede celular a partir da técnica de coloração de Gram e morfologia celular (Tabela 5).

Tabela 5 - Caracterização morfotintorial das estirpes isoladas de macroalgas selecionadas pelo teste de atividade antibacteriana.

Meios	Estirpes	Morfologia	Coloração de Gram
BHI	ULV 3-2	coco	Gram-positivo
	SAR 2-1	bacilo	Gram-negativo
	SAR 3-5	coco	Gram-positivo
	SAR 3-6	coco	Gram-positivo
	SAR 3-7	coco	Gram-positivo
	COL 1-9	coco	Gram-positivo
	COL 1-8	coco	Gram-positivo
	COL 3-2	coco	Gram-positivo
	COL 3-4	coco	Gram-positivo
Marine Agar	SAR 3-8	bacilo	Gram-negativo
	SAR 2-5	bacilo	Gram-negativo

As estirpes apresentaram morfologia colonial mucoide, granulosa e lisas; com pigmento bege, amarelo e translúcidas. Algumas apresentaram o fenômeno conhecido como *swarming* (enxame), que consiste em um tipo de motilidade no qual, quando inoculadas em um meio sólido, as células se diferenciam tornando-se maiores e superexpressando flagelos (KEARNS, 2010) (Figura 14).

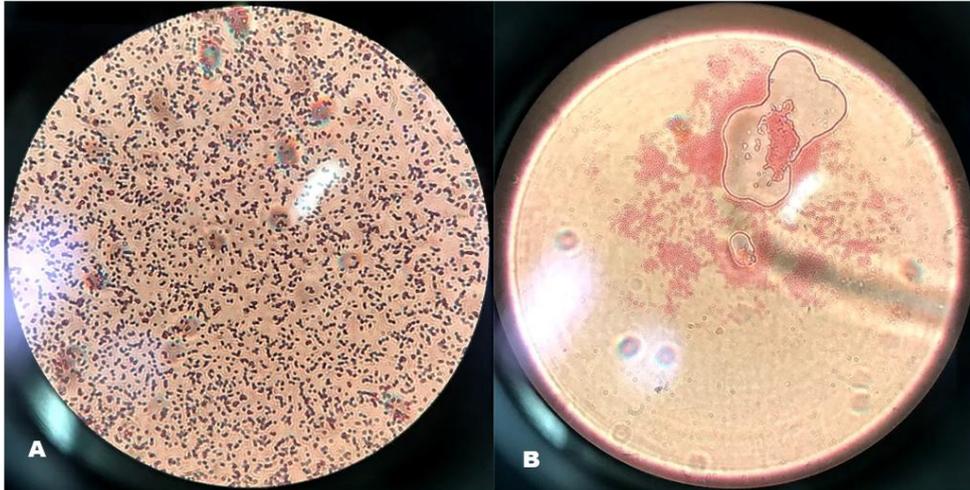
Figura 14 - Placas de culturas de amostras antes e durante o isolamento, mostrando a formação de *swarming* por algumas colônias.



Fonte: próprio autor

Morfotintorialmente, três estirpes foram caracterizadas como bacilos Gram-negativos e oito como cocos Gram-positivos (Figura 15).

Figura 15 - Morfologias e colorações de Gram de células bacterianas, observações feitas ao microscópio óptico (aumento de 1.000X). (A) bactérias Gram-positivas (cocos); (B) bactérias Gram-negativas (bacilos).



Fonte: próprio autor

2.3.4. Identificação molecular das estirpes com atividade antibacteriana

Através do sequenciamento parcial do gene codificador do RNAr 16S e da comparação das sequências obtidas com sequências homólogas depositadas no banco de dados GenBank, todas as estirpes isoladas que tiveram boa atividade antimicrobiana, foram identificadas a nível de gênero ou espécie.

A maioria das estirpes isoladas com atividade antimicrobiana é Gram-positivas (oito estirpes), pertencentes ao filo *Firmicutes*, enquanto apenas três estirpes são Gram-negativas pertencentes a *Proteobacteria*. As estirpes mais ativas isoladas da macroalga *S. vulgare*, foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Vibrio* e *Enterococcus*. O gênero predominante de cepas ativas isoladas de *C. sinuosa* e *Ulva* sp. foi *Enterococcus*.

As estirpes SAR 3-5, SAR 3-6, SAR 3-7, COL 1-8, COL 1-9, COL 3-2 COL 3-4 e ULV 3-2, isoladas em meio BHI, possuem valores de identidade de sequência superior a 99,5 % com as sequências de *Enterococcus casseliflavus*.

As estirpes SAR 2-5 e SAR 3-8 isoladas em meio *Marine*, e SAR 2-1, isoladas do meio BHI, tiveram suas sequências mais similares às sequências de RNAr 16S do gênero *Vibrio*, com valores de identidade de sequência de 99,6 %, 98,7 % e 99,5 %

com as espécies *Vibrio alginolyticus*, respectivamente. O resumo dos dados de caracterização molecular está descrito na tabela 6.

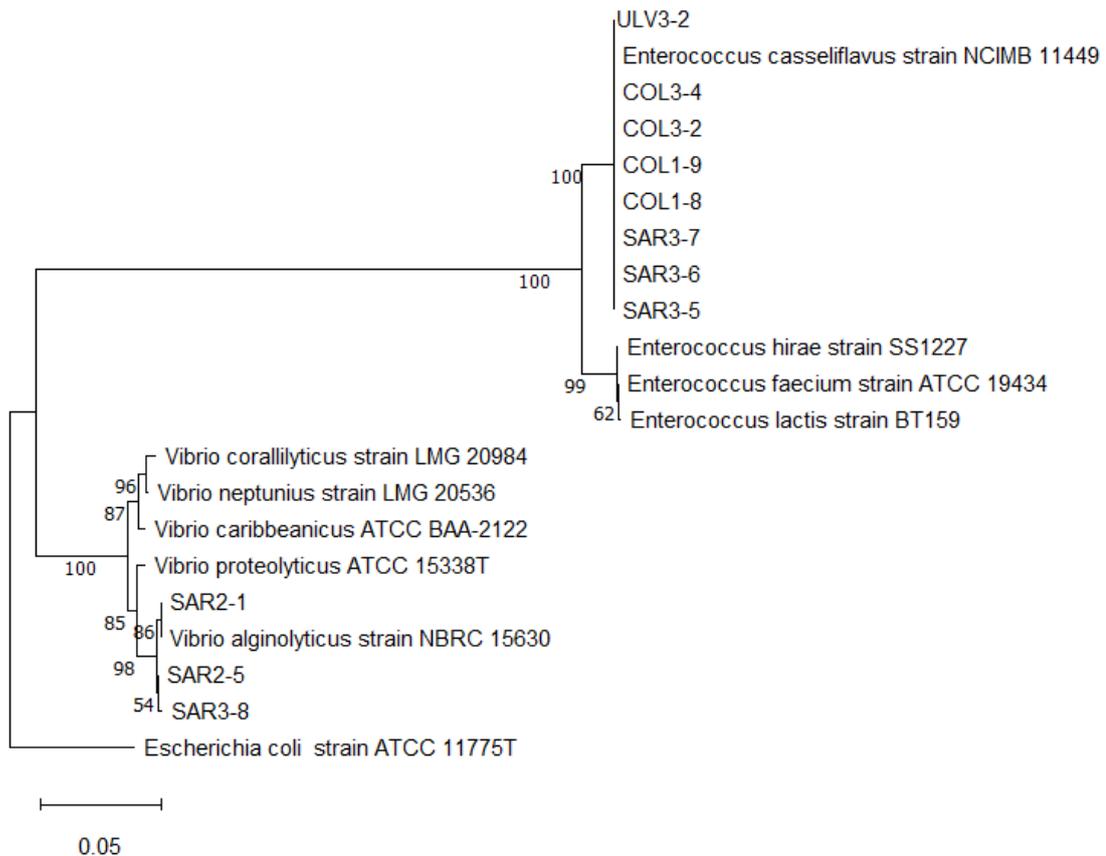
Tabela 6 - Lista das estirpes obtidas usando uma identidade de sequência de RNAr 16S (%) para a cepa tipo mais próxima.

Macroalga de origem	Estirpes isoladas (n. de acesso)	Comprimento da sequência (pb)	Resultados da Análise BLAST		
			Espécie tipo mais próxima (n. de acesso)	Identidade de sequência (%)	Query Cover (%)
<i>Sargassum vulgare</i>					
	SAR2-1 (MT764931)	1417	<i>Vibrio alginolyticus</i> (NR_113781.1)	99,58	100
	SAR2-5 (MT764939)	1380	<i>Vibrio alginolyticus</i> (NR_122059.1)	99,64	100
	SAR3-8 (MT764940)	1354	<i>Vibrio alginolyticus</i> (NR_122059.1)	98,74	100
	SAR3-5 (MT764932)	1017	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	100	100
	SAR3-6 (MT764933)	949	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,69	100
	SAR3-7 (MT764934)	1011	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,7	100
<i>Colpomenia sinuosa</i>					
	COL1-8 (MT764935)	991	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,8	100
	COL1-9 (MT764936)	992	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,6	100
	COL3-2 (MT764937)	940	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,68	100
	COL3-4 (MT764938)	881	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,89	100
<i>Ulva</i> sp.					
	ULV3-2 (MT764941)	884	<i>Enterococcus casseliflavus</i> (NR_119280.1)	99,89	100

2.3.5. Análise filogenética do gene RNA ribossomal 16s

A árvore filogenética (Figura 16) mostra a similaridade entre as linhagens estudadas e as linhagens tipo oriundas da literatura, com base nas sequências quase completas do gene codificador do RNAr 16S.

Figura 16 - Árvore filogenética montada com base nas sequências de RNAr 16S das linhagens de bactérias isoladas de macroalgas comparadas às sequências de linhagens tipo. Filogenia construída pelo método *Neighbor-Joining* e distância evolucionária definida pelo modelo Kimura 2- parâmetros. Posições ambíguas foram retiradas para cada par de sequências (opção par a par). O conjunto de dados final conteve um total de 831 posições. *Bootstrap* expressos em porcentagem com 1000 repetições, sendo apresentados apenas os valores acima de 60 %. Barra de divergência estimada em 5 %.



2.4. DISCUSSÃO

A importância biotecnológica dos metabólitos especiais obtidos de macroalgas marinhas é amplamente reconhecida. No entanto, pouco se sabe sobre a ação dos compostos produzidos por bactérias associadas a essas macroalgas. O presente estudo fornece um panorama sobre a ação antibiótica de substâncias produzidas por 61 isolados bacterianos provenientes de quatro espécies de macroalgas marinhas, de Arraial do Cabo (RJ), pertencentes aos três filos (Chlorophyta, Ochrophyta e Rhodophyta). Dentre as bactérias isoladas, 58 % foram capazes de inibir o crescimento de pelo menos uma das cepas indicadoras. As cepas indicadoras selecionadas para esse estudo representam bactérias relacionadas à bioincrustação

ou patogênicas humanas e marinhas, possibilitando uma visão ampla acerca do potencial biotecnológico das bactérias associadas a macroalgas.

Em um primeiro momento, apenas as linhagens exibindo atividade antibacteriana contra quatro ou mais linhagens de bactérias indicadoras foram selecionadas para a identificação através da taxonomia molecular. Tais linhagens foram identificadas como pertencentes às espécies *Vibrio alginolyticus* e *Enterococcus casseliflavus*. Entretanto, essas espécies podem ser de diferentes linhagens, sendo necessária a utilização de marcadores moleculares específicos para caracterizar essas estirpes e confirmar tais achados.

As estirpes isoladas das macroalgas *C. sinuosa* e *S. vulgare* foram as mais ativas no presente estudo. *C. sinuosa* é rica em vitaminas, ácidos graxos e aminoácidos, o que pode favorecer o crescimento de microrganismos em sua superfície (MANAM; SUBBAIAH, 2020). A microbiota de *C. sinuosa* é conhecida por produzir compostos inibidores de QS (KANAGASABHAPATHY *et al.*, 2009). No presente estudo, estirpes isoladas dessa macroalga marrom foram ativas contra as cepas indicadoras *V. alginolyticus* e *S. aureus* (patogênica de ambiente marinho e de interesse médico, respectivamente), resultado similar ao reportado por Kanagasabhpathy e colaboradores (2006). Estes autores mostraram que estirpes isoladas de *C. sinuosa* no Japão inibiram as mesmas cepas indicadoras, com valores de zona de inibição muito semelhantes. É possível que bactérias associadas a *C. sinuosa* sejam produtoras de algum metabólito capaz de inibir o crescimento dessas cepas indicadoras, independentemente da região geográfica em que são encontradas. Desta forma, apresentam um potencial antimicrobiano para aplicação biotecnológica.

A estirpe mais ativa foi SAR3-6 (*Enterococcus casseliflavus*), proveniente de *S. vulgare*, que foi capaz de inibir o crescimento de sete das dez linhagens de bactérias indicadoras testadas, duas de interesse médico (*S. aureus* e *P. aeruginosa*), duas relacionadas a incrustação marinha (*P. fluorescens* e *P. elyakovii*) e três patogênicas de ambiente marinho (*V. communis*, *V. corallilyticus* e *V. alginolyticus*). Assim, esse isolado apresenta um espectro de inibição bem amplo, tanto contra indicadoras Gram-negativas como Gram-positivas, característica muito importante para um bom composto antimicrobiano. Desta forma, a estirpe SAR3-6 (*Enterococcus casseliflavus*) possivelmente pode auxiliar seu hospedeiro a impedir a colonização de microrganismos incrustantes e patogênicos. As indicadoras *V. communis*, *V.*

corallilyticus e *V. alginolyticus*, são conhecidos patógenos de corais, peixes e outros organismos marinhos. *V. communis* e *V. alginolyticus*, que possuem genes de resistência à antibióticos, foram encontradas associadas a garoupas doentes em fazendas na Malásia (AMALINA *et al.*, 2019). Esses patógenos causam prejuízos tanto ecológicos como econômicos (na aquicultura, por exemplo), por isso, sua inibição mostra o potencial biotecnológico de SAR3-6 (*Enterococcus casseliflavus*) como alternativa ao uso descontrolado de antibióticos nessa área, que contribuem para o aumento da resistência a esses medicamentos. Diante disso, analisar o perfil químico desse isolado bacteriano é necessário, a fim de entender quais substâncias são produzidas por ele e testar outras atividades biológicas.

Das cinco estirpes isoladas de *Ulva* sp., a ULV3-2 (*Enterococcus casseliflavus*), se destacou, pois foi ativa contra cinco das dez indicadoras testadas. A baixa riqueza de cepas associadas à macroalga verde *Ulva* sp., encontradas em nosso trabalho, corrobora com estudos anteriores (CHELLARAM *et al.*, 2013). Espécies de *Ulva* sp. são conhecidas produtoras de Ulvana, um polissacarídeo sulfatado, que apresenta uma ampla gama de atividades biológicas, como propriedades antibacterianas, antiprotozoárias e antimicobacterianas (ORHAN *et al.*, 2006). Extratos de *Ulva* sp. também são capazes de inibir a fixação inicial da bactéria formadora de biofilme *P. aeruginosa* (BATISTA *et al.*, 2014). É possível que a camada mucilaginosa reduzida da superfície da *Ulva* tenha selecionado bactérias mais resistentes ou produtoras de substâncias, e que por isso as estirpes obtidas de *Ulva* nesse estudo tenham apresentado maiores halos de inibição. As estirpes ULV3-1 e ULV3-2, apresentaram excelente atividade, com halos de inibição de 22 mm e 30 mm respectivamente, contra a indicadora de interesse médico *S. aureus*. Estirpes isoladas de várias espécies de *Ulva* em diversos estudos (CHELLARAM *et al.*, 2013; ISMAIL *et al.*, 2018; PENESYAN *et al.*, 2009), apresentaram potencial em inibir o patógeno *Staphylococcus* sp., um gênero de bactérias Gram-positivas capazes de provocar infecções que variam de simples a graves. Estes resultados dão suporte à teoria de que a comunidade bacteriana da macroalga verde *Ulva* sp. sintetiza substâncias antibacterianas contra cepas patogênicas. Embora as estirpes ULV3-1 e ULV3-2, tenham apresentado excelente atividade com grandes halos de inibição, é necessária a extração dessas estirpes a fim de identificar as substâncias majoritárias produzidas por elas.

Bactérias isoladas da macroalga vermelha *P. capillacea* mostraram potencial reduzido em inibir as cepas indicadoras testadas nesse estudo quando comparadas com as outras espécies. Essa macroalga é uma conhecida fonte de ágar e agarose de alta qualidade bacteriológica e farmacêutica (PATARRA *et al.*, 2020), entretanto, existe uma escassez de estudos que foquem em suas bactérias associadas. Uma enorme diversidade de fungos conhecidos produtores de metabólitos secundários antimicrobianos já foram descritos em associação com *P. capillacea* (CHA *et al.*, 2021). No entanto, quando focamos em bactérias, apenas um estudo encontrou dois isolados (*Vibrio* sp. e *Vigribacillus* sp.) associados a essa macroalga, os quais secretam enzimas hidrolíticas capazes de degradar as paredes celulares das macroalgas (IBRAHIM *et al.*, 2015). Um outro estudo realizado com *P. capillacea* sugeriu que as bactérias associadas a esta macroalga podem ter uma relação sinérgica na produção de bioativos (BATISTA *et al.*, 2014) e, assim, as bactérias isoladas do seu hospedeiro, ou de outros microrganismos não seriam capazes de serem ativas. Além disso, as condições de cultivo (cultivo em meio sólido ou em caldo líquido, co-cultivo com outros organismos) pode influenciar a produção de metabólitos secundários desses microrganismos (DIGGLE; CRUSZ; CÁMARA, 2007; YAN *et al.*, 2003).

Os indicadores *P. elyakovii* e *V. alginolyticus* foram os mais suscetíveis à atividade inibitória de isolados obtidos de espécies de macroalgas. *P. elyakovii* é uma bactéria marinha envolvida no processo de bioincrustação (THABARD *et al.*, 2011), que já foi descrita como causadora da doença responsável pela ferida localizada em *Laminaria* spp. no Japão (NARITA *et al.*, 2001). Assim como *V. alginolyticus*, que causa infecções em diversos organismos marinhos, como moluscos, crustáceos, peixes e algas (MARTINEZ; PADILLA, 2016). Sendo assim, essas bactérias representam uma grande ameaça para a aquicultura. Como essas foram as cepas mais suscetíveis no presente estudo, as bactérias associadas às macroalgas podem constituir uma fonte inexplorada de antimicrobianos para a aquicultura, diminuindo os patógenos que causam quedas graves em sua produção.

Por outro lado, as cepas *S. putrefaciens* e *E. coli* foram as mais resistentes às estirpes isoladas. *S. putrefaciens* é uma bactéria Gram-positiva, envolvida no processo de incrustação marinha, e também é responsável pela corrosão de metais devido à sua capacidade de reduzir Fe e Mn por respiração anaeróbia

(DICHRIHALT; DELONG, 1993; NEALSON; MYERS, 1992). *S. putrefaciens* foi inibida no presente trabalho apenas por três estirpes, duas delas (SAR2-5 e SAR3-8) foram identificadas como *V. alginolyticus*. Possivelmente por ambas estirpes serem comuns no ambiente marinho, elas podem competir por espaço e nutrição, sendo assim, *V. alginolyticus* seria capaz de secretar compostos com atividade antagônica contra *S. putrefaciens*.

As estirpes COL 1-8, COL 1-9, COL 3-2 e ULV 3-2 tiveram similaridade maior que 99 % com *Enterococcus*, gênero de bactérias que já foi descrito por outros autores associado a diversas espécies de esponjas marinhas no estado do Rio de Janeiro, inclusive na região de Cabo Frio (SANTOS-GANDELMAN *et al.*, 2013; LAPORT; GANDELMAN, 2016; LAPORT *et al.*, 2017). O gênero *Enterococcus* foi encontrado associado à macroalgas pela primeira vez em uma espécie de macroalga verde (*Ulva rigida*) na costa norte da Tunísia, onde mostrou excelente atividade antimicrobiana contra diferentes patógenos humanos e marinhos (ISMAIL *et al.*, 2018). *Enterococcus* sp. é descrito como patógeno potencial (ARIAS; MURRAY, 2012) que vive no intestino de quase todos os animais, sendo ainda ubíquos e conseguindo viver em condições ambientais hostis (FISHER; PHILLIPS, 2009). Embora a presença desse gênero seja indicativa de contaminação fecal (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012; TEIXEIRA *et al.*, 2020), não há evidência de que haja contaminação por esgoto no local onde essas macroalgas foram coletadas, segundo dados de balneabilidade. A presença do gênero *Enterococcus* pode ser explicada devido à grande presença de aves no local de coleta, já que o intestino de muitas aves aquáticas, como gaivotas por exemplo, é repleto de *Enterococcus* (RADHOUANI; IGREJAS; GONC, 2011; PRICHULA *et al.*, 2021). *Enterococcus* sp. são também conhecidos por produzir bacteriocinas, que são na timicrobianos proteináceos ou peptídicas sintetizadas pelos ribossomos com atividade inibitória contra outras bactérias. Essas bacteriocinas são vistas como uma alternativa aos antibióticos convencionais contra bactérias multirresistentes (COTTER; ROSS; HILL, 2013; YANG *et al.*, 2014). As estirpes com melhores atividades antibacterianas neste estudo foram identificadas como pertencentes a esse gênero. Entretanto, mais estudos são necessários para caracterizar as substâncias responsáveis pela ação antibiótica das cepas isoladas.

As estirpes isoladas de *S. vulgare* SAR2-1, SAR2-5 e SAR3-8, foram identificadas através do sequenciamento do gene ribossomal 16S como o bacilo

Gram-negativo *Vibrio alginolyticus*. Esse gênero é conhecido por produzir uma diversidade de produtos naturais com atividade biológica, entre elas, antibacteriana, anticâncer e antifúngica (MANSSON; GRAM; LARSEN, 2011). Alguns vibrios marinhos produzem compostos antibacterianos antagonistas e apresentam potencial para a descoberta de produtos naturais (WIETZ *et al.*, 2010). No presente estudo, a estirpe SAR2-1 isolada em meio BHI, inibiu o crescimento do patógeno Gram-positivo *S. aureus*. Metabólitos primários e secundários de *V. alginolyticus* isolados da esponja *Haliclona* sp. também se mostraram eficientes em inibir o crescimento desse patógeno (NURSYAM, 2017), reforçando a ação antibiótica de bioativos produzidos por *V. alginolyticus*. Essa espécie bacteriana já foi encontrada associada a diversas espécies de macroalgas, como *Padina pavonica* (ISMAIL *et al.*, 2016), *Laminaria japonica* (WANG *et al.*, 2008) e *Gracilaria heteroclada* (MARTINEZ; PADILLA, 2016). Essa bactéria é frequentemente considerada um patógeno para macroalgas, por ser capaz de degradar sua parede celular. Porém, no presente estudo, essas cepas bacterianas foram isoladas de macroalgas saudáveis da espécie *S. vulgare*, sugerindo que sua ação patogênica ocorra apenas em situações de desequilíbrio. De fato, *S. vulgare* é conhecida por produzir metabólitos capazes de inibir o crescimento de *V. alginolyticus* (CARVALHO *et al.*, 2017), e por esse motivo, esta cepa se encontraria em baixa concentração na macroalga não causando danos a mesma.

Na taxonomia bacteriana, bactérias com identidade de sequência do gene codificador do RNAr 16S maior que 98,7 % são aceitas como sendo da mesma espécie (STACKEBRANDT; EBERS, 2006; ROSSI-TAMISIER *et al.* 2015). As sequências do gene RNAr 16S de todas as cepas isoladas nesse estudo apresentaram semelhanças com outras sequências publicadas acima de 98,7 %, o que sugere se tratar de espécies já descritas. Entretanto, a utilização de genes marcadores específicos, como as regiões codificantes de proteínas *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *lepA* e *pyrH*, complementariza os resultados obtidos através do sequenciamento RNAr 16S, confirmando a identificação a nível de espécie.

A baixa diversidade de cepas isoladas nesse estudo pode ser explicada pelo uso dos meios de culturas utilizados no isolamento. Além disso, outra questão a ser levada em conta é o fato dessas bactérias adquirirem a nutrição necessária, como vitaminas e polissacarídeos para seu desenvolvimento a partir de seu hospedeiro. Assim, quando cultivadas em laboratório, não teriam mais sua fonte nutricional

essencial para se desenvolver. Adicionalmente, essas estirpes também podem exigir condições de cultivo que se assemelhem ao seu ambiente natural (ARMSTRONG *et al.*, 2001; PENESYAN; KJELLEBERG; EGAN, 2010). Devemos levar em conta também que apenas uma pequena fração das bactérias ambientais são passíveis de serem cultivadas em laboratório pelas técnicas atuais (EPSTEIN, 2013), o que destaca a importância de técnicas moleculares para a bioprospecção marinha através de metodologias baseadas em “ômicas”. Apesar disso, o isolamento das bactérias, em muitos casos se torna indispensável, pois através dele há possibilidade de testes de atividade biológica direta, além de cultivo em larga escala para aplicação biotecnológica.

2.5. CONCLUSÃO

As bactérias isoladas das macroalgas marinhas *S. Vulgare*, *C. Sinuosa* e *Ulva* sp. podem representar uma nova fonte de metabólitos secundários antimicrobianos altamente ativos contra várias bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, que podem ser empregados no combate a bactérias incrustantes e patogênicas para os seres humanos e organismos marinhos. Além disso, esses microrganismos podem ainda ser benéficos para as algas por limitar ou prevenir o desenvolvimento de bactérias concorrentes, incrustantes e patogênicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTSCHUL, S. F. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, p. 3389–3402, 1997.
- AMALINA, N. Z. *et al.* Prevalence , antimicrobial susceptibility and plasmid profiling of *Vibrio* spp. isolated from cultured groupers in Peninsular Malaysia. p. 1–15, 2019.
- ARIAS, C. A.; MURRAY, B. E. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 4, p. 266–278, 2012.
- ARMSTRONG, E. *et al.* The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. **Hydrobiologia**, v. 461, p. 37–40, 2001.
- BATISTA, D. *et al.* Distribution of the invasive orange cup coral *Tubastraea coccinea* lesson, 1829 in an upwelling area in the South Atlantic Ocean fifteen years after its first record. **Aquatic Invasions**, v. 12, n. 1, p. 23–32, 2017.
- BATISTA, D. *et al.* Extracts of macroalgae from the Brazilian coast inhibit bacterial quorum sensing. **Botanica Marina**, v. 57, n. 6, p. 441–447, 2014.
- BRESSY, C. *et al.* Optimized silyl ester diblock methacrylic copolymers: A new class of binders for chemically active antifouling coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 77, n. 3, p. 665–673, 2014.
- BYAPPANAHALLI, M. N. *et al.* *Enterococci* in the Environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, n. 4, p. 685–706, 2012.
- CALADO, L. *et al.* **Características geológicas e oceanográficas**. In: Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico, Ecologia e Conservação. Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira, p. 407, 2020.
- CARVALHO, A. P. *et al.* Extracts of seaweeds as potential inhibitors of quorum sensing and bacterial growth. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 789–797, 2017.
- CHA, H.-J. *et al.* Culturable Fungal Community of *Pterocladia capillacea* in Keelung , Taiwan : Effects of Surface Sterilization Method and Isolation Medium. **J. Fungi**, v. 7, n. 651, p. 1–16, 2021.
- CHAKRABORTY, K.; THILAKAN, B.; RAOLA, V. K. Polyketide family of novel antibacterial 7-O-methyl-5'-hydroxy-3'-heptenoate-macrolactin from seaweed-associated *Bacillus subtilis* MTCC 10403. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 50, p. 12194–12208, 2014.
- CHELLARAM, C. *et al.* Antagonistic effect of epiphytic bacteria from marine algae, Southeastern India. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 16, n. 9, p. 431–434, 2013.
- CHEN, M. Y.; PARFREY, L. W. Incubation with macroalgae induces large shifts in water column microbiota, but minor changes to the epibiota of co-occurring macroalgae. **Molecular Ecology**, v. 27, n. 8, p. 1966–1979, 2018.
- CHO, J. Y.; KIM, M. Induction of Antifouling Diterpene Production by *Streptomyces cinnabarinus* PK209 in Co-Culture with Marine-Derived *Alteromonas* sp . KNS-16 Induction of Antifouling Diterpene Production by *Streptomyces cinnabarinus*. **Biosci.**

Biotechnol. Biochem., v. 76, n. 10, p. 1849–1854, 2012.

CIRANO, M. *et al.* A circulação oceânica de larga-escala na região oeste do Atlântico Sul com base no modelo de circulação Global OCCAM. **Rev. Bras. Geof.**, v. 24, p. 209–230, 2006.

COELHO-SOUZA, S. A. *et al.* Bacterial and archaeal communities variability associated with upwelling and anthropogenic pressures in the protection area of Arraial do Cabo (Cabo Frio region - RJ). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 3, p. 1737–1750, 2015.

COMBA GONZÁLEZ, N. *et al.* Production of enzymes and siderophores by epiphytic bacteria isolated from the marine macroalga *Ulva lactuca*. **Aquatic Biology**, v. 27, p. 107–118, 2018.

COTTER, P. D.; ROSS, R. P.; HILL, C. Bacteriocins-a viable alternative to antibiotics? **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 2, p. 95–105, 2013.

CUADRAT, R. R. C.; CURY, J. C.; DÁVILA, A. M. R. Metagenomic analysis of upwelling-affected brazilian coastal seawater reveals sequence domains of type I PKS and modular NRPS. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 12, p. 28285–28295, 2015.

CURY, J. C. *et al.* Microbial diversity of a Brazilian coastal region influenced by an upwelling system and anthropogenic activity. **PLoS ONE**, v. 6, n. 1, 2011.

DA GAMA, B. A. P. *et al.* Antifouling activity of natural products from Brazilian seaweeds. **Botanica Marina**, v. 51, n. 3, p. 191–201, 2008.

DE GUIMARAENS, M. A.; COUTINHO, R. Spatial and temporal variation of benthic marine algae at the Cabo Frio upwelling region, Rio de Janeiro, Brazil. **Aquatic Botany**, v. 52, n. 4, p. 283–299, 1996.

DE LIMA PROCÓPIO, R. E. *et al.* Antibiotics produced by *Streptomyces*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 466–471, 2012.

DE PAULA, J. C. *et al.* Diversity and turnover in a rocky shore intertidal community of an upwelling region (Arraial do cabo, Brazil). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 2, p. 1–21, 2020.

DICHRISTINALT, T. J.; DELONG, E. F. Design and Application of rRNA-Targeted Oligonucleotide Probes for the Dissimilatory Iron- and Manganese-Reducing Bacterium *Shewanella putrefaciens*. v. 59, n. 12, p. 4152–4160, 1993.

DIGGLE, S. P.; CRUSZ, S. A.; CÁMARA, M. Quorum sensing. **Current Biology**, v. 17, n. 21, p. 907–910, 2007.

DOBRETISOV, S. V; QIAN, P.-Y. Effect of Bacteria Associated with the Green Alga *Ulva reticulata* on Marine Micro- and Macrofouling. **Biofouling**, v. 18, n. 3, p. 217–228, 2002.

EGAN, S. *et al.* The seaweed holobiont: Understanding seaweed-bacteria interactions. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 3, p. 462–476, 2013.

EGAN, S.; HOLMSTRÖM, C.; KJELLEBERG, S. *Pseudoalteromonas ulvae* sp. nov., a bacterium with antifouling activities isolated from the surface of a marine alga. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 4, p.

1499–1504, 2001.

EGGERTSEN, L. *et al.* Seaweed beds support more juvenile reef fish than seagrass beds in a south-western Atlantic tropical seascape. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 196, p. 97–108, 2017.

EPSTEIN, S. S. The phenomenon of microbial uncultivability. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 636–642, 2013.

FELSENSTEIN, J. Confidence Limits on Phylogenies: an Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 1985.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, v. 155, n. 6, p. 1749–1757, 2009.

FOSTER, T. J. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 430–449, 2017.

GENBANK. **GenBank Overview. NCBI - National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>>. Acesso em: 14 abr. 2020.

GOECKE, F. *et al.* Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria. **Marine Ecology Progress Series**, v. 409, p. 267–299, 2010.

HUG, J. J.; KRUG, D.; MÜLLER, R. Bacteria as genetically programmable producers of bioactive natural products. **Nature Reviews Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 172–193, 2020.

IBRAHIM, H. A. . *et al.* Seaweeds agarophytes and associated epiphytic bacteria along Alexandria coastline, Egypt, with emphasis on the evaluation and extraction of agar and agarose. **Revista de biología marina y oceanografía**, v. 50, n. 3, p. 545–561, 2015.

ISMAIL, A. *et al.* Antimicrobial activities of bacteria associated with the brown alga *Padina pavonica*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JUL, 2016.

ISMAIL, A. *et al.* Heterotrophic bacteria associated with the green alga *Ulva rigida*: identification and antimicrobial potential. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 5, p. 2883–2899, 2018.

JAVEE, A.; KARUPPAN, R.; SUBRAMANI, N. Bioactive glycolipid biosurfactant from seaweed *Sargassum myriocystum* associated bacteria *Streptomyces* sp. SNJASM6. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, n. June 2019, p. 101505, 2020.

KANAGASABHAPATHY, M. *et al.* Antibacterial activities of marine epibiotic bacteria isolated from brown algae of Japan. **Annals of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 167–173, 2006.

KANAGASABHAPATHY, M. *et al.* Presence of quorum-sensing inhibitor-like compounds from bacteria isolated from the brown alga *Colpomenia sinuosa*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 573–579, 2009.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KIZHAKKEPATT KIZHAKKEKALAM, V.; CHAKRABORTY, K.; JOY, M. Antibacterial

and antioxidant aryl-enclosed macrocyclic polyketide from intertidal macroalgae associated heterotrophic bacterium *Shewanella algae*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, n. 1, p. 145–155, 2020.

KUMAR, S. *et al.* MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 2018.

LANARI, M. DE O.; COUTINHO, R. Reciprocal causality between marine macroalgal diversity and productivity in an upwelling area. **Oikos**, v. 123, n. 5, p. 630–640, 2014.

LAPORT, M. S. *et al.* Culturable bacterial communities associated to Brazilian Oscarella species (Porifera: Homoscleromorpha) and their antagonistic interactions. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 110, n. 4, p. 489–499, 2017.

LEE, R. **Basic characteristics of the algae**. [s.l: s.n.].

MALVE, H. Exploring the ocean for new drug developments : Marine pharmacology. **J Pharm Bioall Sci**, v. 8, p. 83–91, 2016.

MANAM, V. K.; SUBBIAH, M. Phytochemical, amino acid, fatty acid and vitamin investigation of marine seaweeds *Colpomenia sinuosa* and *Halymenia porphyroides* collected along Southeast Coast of Tamilnadu, India. v. 9, n. 4, p. 1088–1102, 2020.

MANSSON, M.; GRAM, L.; LARSEN, T. O. Production of bioactive secondary metabolites by marine *Vibrionaceae*. **Marine Drugs**, v. 9, n. 9, p. 1440–1468, 2011.

MARINHO, P. R. *et al.* Marine *Pseudomonas putida*: A potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 5, p. 678–682, 2009.

MARTINEZ, J. N.; PADILLA, P. I. P. Isolation and characterization of agar-digesting *Vibrio* species from the rotten thallus of *Gracilariopsis heteroclada* Zhang et Xia. **Marine Environmental Research**, v. 119, p. 156–160, 2016.

MARTINS, A.; CUNHA, M. D. L. R. S. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci: Epidemiological and molecular aspects. **Microbiology and Immunology**, v. 51, n. 9, p. 787–795, 2007.

MATHUR, H. *et al.* Bacteriocin-antimicrobial synergy: A medical and food perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JUN, p. 1–18, 2017.

MENDONÇA, T. C. D. M.; MORAES, E. A.; COSTA, M. A. M. Turismo e pesca nas Reservas Extrativistas Marinhas de Arraial do Cabo (RJ) e da Prainha do Canto Verde (CE): possibilidades e limites de complementaridade. **Caderno Virtual de Turismo**, v. 13, n. 3, p. 372–390, 2013.

NARITA, M. *et al.* No Title. In: **Rapid PCR detection of *Pseudoalteromonas elyakovii*, the causative bacterium of *Laminaria* spot wound disease in Japan**. [s.l: s.n.]. p. 989–394.

NEALSON, K. H.; MYERS, C. R. MINIREVIEW Microbial Reduction of Manganese and Iron : New Approaches to Carbon Cycling. v. 58, n. 2, p. 439–443, 1992.

NURSYAM, H. Antibacterial activity of metabolites products of *Vibrio alginolyticus* isolated from sponge *Haliclona* sp. Against *Staphylococcus aureus*. **Italian Journal of Food Safety**, v. 6, n. 1, p. 18–22, 2017.

- O'CONNOR, P. M. *et al.* Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 61, p. 160–167, 2020.
- O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally. **REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE**, 2016.
- ORHAN, I. *et al.* Turkish freshwater and marine macrophyte extracts show in vitro antiprotozoal activity and inhibit FabI, a key enzyme of *Plasmodium falciparum* fatty acid biosynthesis. **Phytomedicine**, v. 13, p. 388–393, 2006.
- PATARRA, R. F. *et al.* Concise review of the species *Pterocladia capillacea* (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 2, p. 787–808, 2020.
- PENESYAN, A. *et al.* Antimicrobial activity observed among cultured marine epiphytic bacteria reflects their potential as a source of new drugs: Research article. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 69, n. 1, p. 113–124, 2009.
- PENESYAN, A.; KJELLEBERG, S.; EGAN, S. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms. **Marine Drugs**, v. 8, n. 3, p. 438–459, 2010.
- ROSSI-TAMISIER, Morgane *et al.* Cautionary tale of using 16S rRNA gene sequence similarity values in identification of human-associated bacterial species. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, v. 65, n. Pt_6, p. 1929–1934, 2015.
- ROTTER, A. *et al.* The Essentials of Marine Biotechnology. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, n. March, p. 1–53, 2021.
- S LAPORT, M.; GANDELMAN, J. F. S. Antagonistic Interactions among Bacteria Isolated from either the Same or from Different Sponges Native to the Brazilian Coast. **Journal of Marine Science: Research & Development**, v. 06, n. 02, 2016.
- SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular biology and evolution**, v. 4, n. 4, p. 406–425, 1987.
- SANTOS-GANDELMAN, J. F. *et al.* Characterization of Cultivable Bacteria from Brazilian Sponges. **Marine Biotechnology**, v. 15, n. 6, p. 668–676, 2013.
- SAYEM, S. M. A. *et al.* Anti-biofilm activity of an exopolysaccharide from a sponge-associated strain of *Bacillus licheniformis*. **Microbial Cell Factories**, v. 10, p. 1–12, 2011.
- SEKUROVA, O. N.; SCHNEIDER, O.; ZOTCHEV, S. B. Novel bioactive natural products from bacteria via bioprospecting, genome mining and metabolic engineering. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 5, p. 828–844, 2019.
- SRINIVASAN, R. *et al.* Marine Bacterial Secondary Metabolites : A Treasure House for Structurally Unique and Effective Antimicrobial Compounds. p. 1–36, 2021.
- STACKEBRANDT, E.; EBERS, J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. **Microbiology Today**, v. 33, p. 152–155, 2006.
- SUDATTI, D. B. *et al.* New Ecological Role of Seaweed Secondary Metabolites as Autotoxic and Allelopathic. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, 2020.
- SUSILOWATI, R.; SABDONO, A.; WIDOWATI, I. Isolation and Characterization of

- Bacteria Associated with Brown Algae *Sargassum* spp. from Panjang Island and their Antibacterial Activities. **Procedia Environmental Sciences**, v. 23, n. Ictcred 2014, p. 240–246, 2015.
- TEIXEIRA, P. *et al.* Environmental and Adaptive Changes Necessitate a Paradigm Shift for Indicators of Fecal Contamination. **Microbiology Spectrum**, v. 8, n. 2, p. 1–20, 2020.
- TERRA, C. S. S. **EFEITO DE MICRO-ORGANISMOS PATOGENICOS EM *Tubastraea coccinea* LESSON, 1829.** [s.l.] Universidade Federal Fluminense, 2016.
- THABARD, M. *et al.* *Sargassum polyceratum* (Phaeophyceae, Fucaceae) surface molecule activity towards fouling organisms and embryonic development of benthic species. **Botanica Marina**, v. 54, n. 2, p. 147–157, 2011.
- THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. CLUSTAL W (improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice). **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994.
- VALENTIN, J. L. Analyse des paramètres hydrobiologiques dans la remontée de Cabo Frio (Brésil). **Marine Biology**, v. 82, n. 3, p. 259–276, 1984.
- VIKESLAND, P. *et al.* Differential Drivers of Antimicrobial Resistance across the World. **Accounts of Chemical Research**, v. 52, n. 4, p. 916–924, 2019.
- WAHL, M. *et al.* The second skin: Ecological role of epibiotic biofilms on marine organisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. AUG, p. 1–21, 2012.
- WANG, G. *et al.* Phylogenetic analysis of epiphytic marine bacteria on Hole-Rotten diseased sporophytes of *Laminaria japonica*. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 4, p. 403–409, 2008.
- WEISBURG, W. G. *et al.* 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 2, p. 697–703, 1991.
- WIETZ, M. *et al.* Antibacterial compounds from marine *Vibrionaceae* isolated on a global expedition. **Marine Drugs**, v. 8, n. 12, p. 2946–2960, 2010.
- YAN, L. *et al.* Biofilm-specific cross-species induction of antimicrobial compounds in bacilli. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 3719–3727, 2003.
- YANG, S. C. *et al.* Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. MAY, p. 1–10, 2014.
- YE, L. *et al.* Antibacterial activity and mutagenesis of sponge-associated *Pseudomonas fluorescens* H41. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 108, n. 1, p. 117–126, 2015.
- YONESHIGUE, Y. **Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Brésil).** [s.l.] Université d'Aix-Marseille, 1985.
- YONESHIGUE-VALENTIN, Y. *et al.* **Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico, Ecologia e Conservação.** Arraial do Cabo: [s.n.].

CAPÍTULO 3: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS ÀS MACROALGAS MARINHAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

3.1. INTRODUÇÃO

Os organismos marinhos produzem uma enorme diversidade de substâncias conhecidas como produtos naturais, metabólitos secundários ou metabólitos especiais (KARTHIKEYAN; JOSEPH; NAIR, 2022). Essas substâncias, na maioria das vezes, estão envolvidas em processos relacionados à interação com outros organismos ou com o meio ambiente, inibindo o consumo por predadores, combatendo microrganismos patogênicos e impedindo o recobrimento por bioincrustantes (DA GAMA; PLOUGUERNÉ; PEREIRA, 2014).

Estima-se que mais de 30 mil metabólitos especiais já foram isolados de organismos marinhos, dos quais mais de 70 % não estão representados em organismos terrestres (MALVE, 2016). Esses metabólitos apresentam grande potencial biotecnológico e despertam o interesse de vários setores, como aquicultura, indústria naval e farmacêutica (ANDRYUKOV; MIKHAILOV; BESEDNOVA, 2019). Mais da metade dos agentes farmacêuticos são derivados de produtos naturais ou inspirados neles (NEWMAN; CRAGG, 2020). As bactérias são reconhecidas como importantes fontes de produtos naturais biologicamente ativos, levando a aplicações bem-sucedidas nas indústrias farmacêuticas (SEKUROVA; SCHNEIDER; ZOTCHEV, 2019).

As bactérias marinhas associadas às macroalgas têm se destacado na produção de metabólitos com um amplo espectro de atividades antibacterianas e elevado potencial biotecnológico (ANDRYUKOV; MIKHAILOV; BESEDNOVA, 2019). Dentre essas atividades, pode-se citar ação antimicrobiana de importância farmacológica contra bactérias multirresistentes (CHAKRABORTY; KIZHAKKEKALAM; JOY, 2022), uso na aquicultura contra patógenos (ULFAH; KASANA; WIJAYANTI, 2021) e anti-incrustante contra biofilmes (RAJASREE; SATHEESH; VINCENT, 2012).

Atualmente, o uso descontrolado de antibióticos contra os patógenos nosocomiais (FAIR; TOR, 2014), bem como nas atividades de agricultura e aquicultura têm levado a um número crescente de bactérias resistentes a antibióticos

e à consequente diminuição da eficácia dos agentes antibióticos convencionais (REVERTER *et al.*, 2020). Além disso, as bactérias patogênicas são também outro grande problema na indústria alimentar, causando anualmente problemas de saúde em milhões de pessoas ao redor do mundo (RATHER *et al.*, 2021).

A bioincrustação é outro grande problema relacionado às bactérias. A fixação de microrganismos em superfícies submersas na água é o primeiro passo para a comunidade incrustante se estabelecer. Diante dos enormes prejuízos econômicos ocasionados pela bioincrustação em cascos de navios e estruturas submersas, a busca por substâncias capazes de inibir a colonização desses microrganismos incrustantes se intensificou nos últimos anos (GAMA; PEREIRA; COUTINHO, 2009). Organismos marinhos são fontes promissoras de compostos naturais com atividades anti-incrustantes (GOMEZ-BANDERAS, 2022), que inibem o assentamento de larvas de invertebrados incrustantes e esporos de macroalgas (WANG *et al.*, 2022).

Apesar do elevado potencial biotecnológico dos produtos naturais marinhos, poucos estão disponíveis comercialmente. O principal desafio a nível mundial para a aplicação biotecnológica de produtos naturais marinhos é a dificuldade de obtê-los nas quantidades necessárias. Isso decorre de três aspectos principais: (i) a biossíntese dos metabólitos especiais ocorre em baixas concentrações; (ii) muitos organismos marinhos têm dificuldade de se adaptar a condições de cultivo ou têm a produção dos metabólitos de interesse reduzida sob essas condições; (iii) a complexidade química dessas substâncias torna inviável economicamente a síntese química total (THOMPSON; THOMPSON, 2020). Nesse contexto, a busca por substâncias bioativas produzidas por bactérias marinhas cultiváveis surge como uma alternativa. O cultivo bacteriano tem como vantagens o custo relativamente baixo e a facilidade de escalonamento, quando comparado ao cultivo de organismos multicelulares (TAN *et al.*, 2019).

Dado o crescente interesse neste campo, o objetivo deste estudo foi realizar a primeira revisão sistemática da literatura sobre bactérias associadas às macroalgas e a produção de metabólitos especiais com atividade antibacteriana. Buscamos sintetizar e resumir a literatura existente sobre o tema, destacar lacunas de conhecimento, recomendar caminhos para pesquisas futuras e sugerir melhores práticas para avançar no campo.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1. Parâmetros da pesquisa bibliográfica

A principal busca pela literatura foi realizada em janeiro de 2022 utilizando três bancos de dados de publicação online: Scopus, Web of Science e PubMed. O processo de seleção dos artigos foi estruturado de acordo com a abordagem PRISMA (MOHER *et al.*, 2009). Os seguintes termos foram utilizados durante um primeiro exercício de busca:

((seaweed OR macroalgae OR "marine algae") AND bacteria AND (epiphytic OR symbiont OR epibiont OR associated) AND (antibacterial OR antibiotic OR antimicrobial))).

3.2.2. Processo de seleção dos artigos

Os artigos encontrados durante as buscas foram avaliados para inclusão usando um processo de triagem em duas etapas:

3.2.2.1. *Etapa 1: Critérios de inclusão do estudo*

O título e o resumo de cada publicação foram avaliados quanto à relevância usando os seguintes critérios de inclusão:

- Objetivo do estudo: avaliar a atividade antibiótica de bactérias associadas a macroalgas;
- Resultados: demonstram atividade de inibição do crescimento de bactérias-teste.
- Tipo de estudo: estudo empírico publicado em um periódico revisado por pares.

3.2.2.2. *Etapa 2: Extração e apresentação de dados*

Os artigos selecionados foram lidos na íntegra, e as seguintes informações foram extraídas, quando disponíveis:

- espécies de macroalgas coletadas;
- local do estudo;
- grupos bacterianos associados às macroalgas;
- método utilizado para a identificação dos grupos bacterianos;

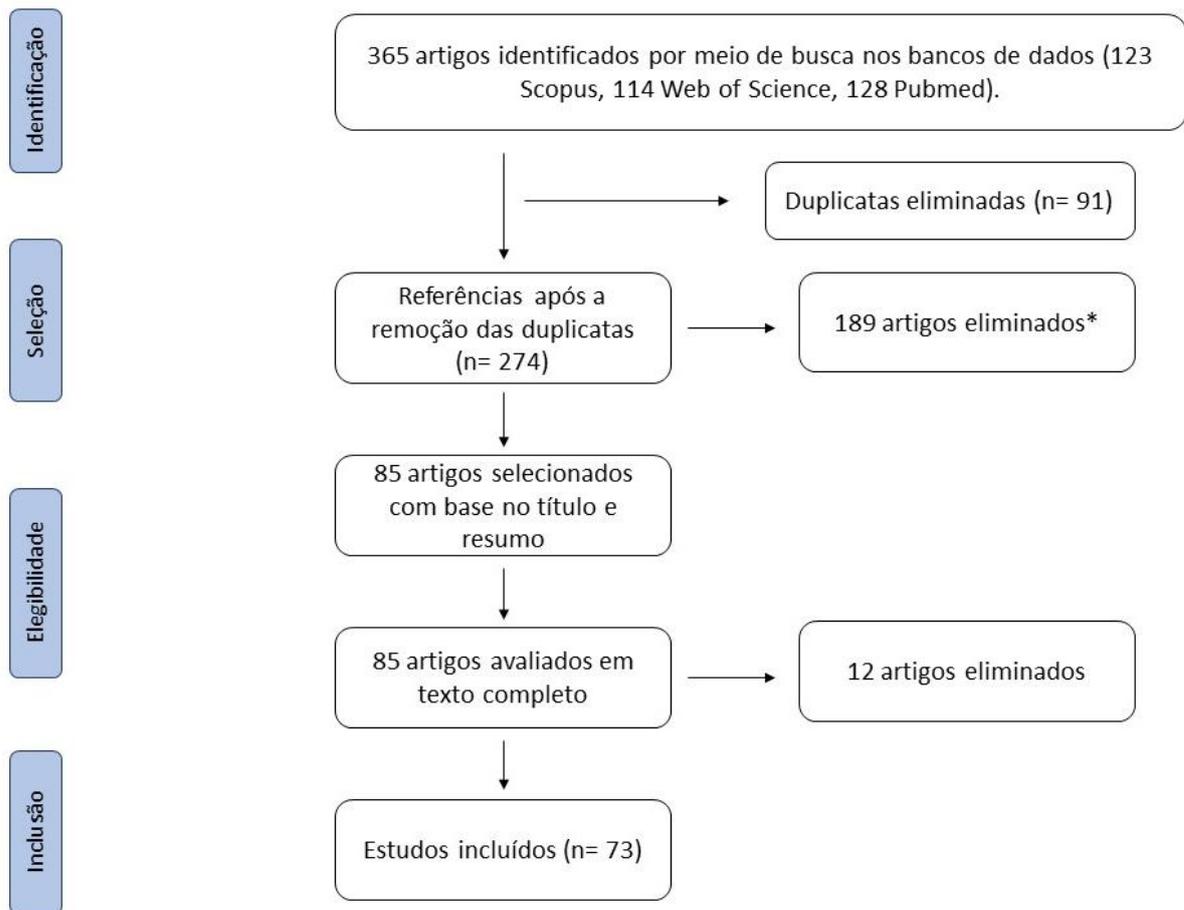
- potencial biotecnológico;
- identificação dos compostos produzidos pelas bactérias.

Os resultados foram organizados de acordo com o foco em atividade anti-incrustante, agricultura, aquacultura e patógenos humanos.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

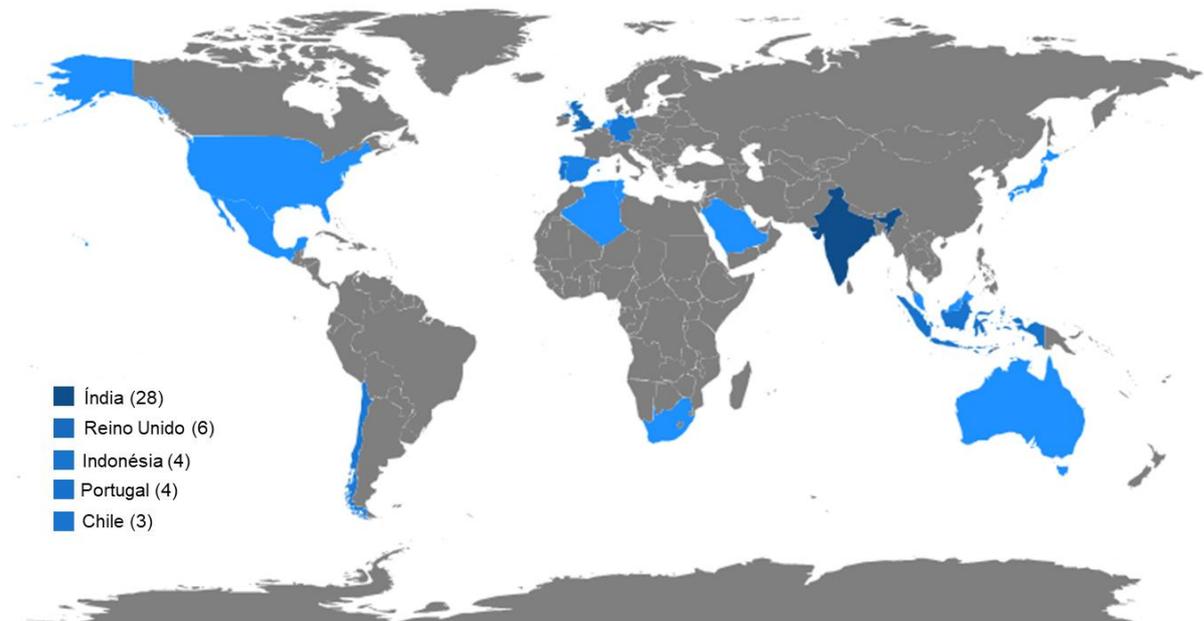
A busca com os termos de pesquisa em três bancos de dados resultou em um total de 365 artigos. Após a remoção de duplicatas e a triagem de acordo com os critérios de inclusão, foram selecionados 73 artigos, discutidos em profundidade nessa revisão (Figura 17).

Figura 17: Resumo da inclusão e triagem de artigos seguindo a abordagem PRISMA (Moher *et al.*, 2009). *189 artigos eliminados com base no título e resumo por não se enquadrarem nos critérios de inclusão.



A maioria dos estudos de bactérias bioativas associadas às macroalgas foi conduzida na Índia (38 %; n = 28), seguido do Reino Unido (8 %; n = 6) e Indonésia (5 %; n = 4). (Figura 18). Um trabalho de revisão narrativa, publicado recentemente sobre bactérias marinhas como fonte de compostos antimicrobianos (STINCONE; BRANDELLI, 2020), mostrou que a Índia e a China são os principais países com a maior produção de publicações nessa área. No entanto, eles analisaram trabalhos publicados entre os anos de 1998 a 2018 sobre bactérias marinhas isoladas de diferentes fontes marinhas, incluindo substratos bióticos e abióticos.

Figura 18: Produção científica global sobre atividade antimicrobiana de bactérias associadas às macroalgas. A intensidade da cor azul é proporcional à quantidade de publicações da área.

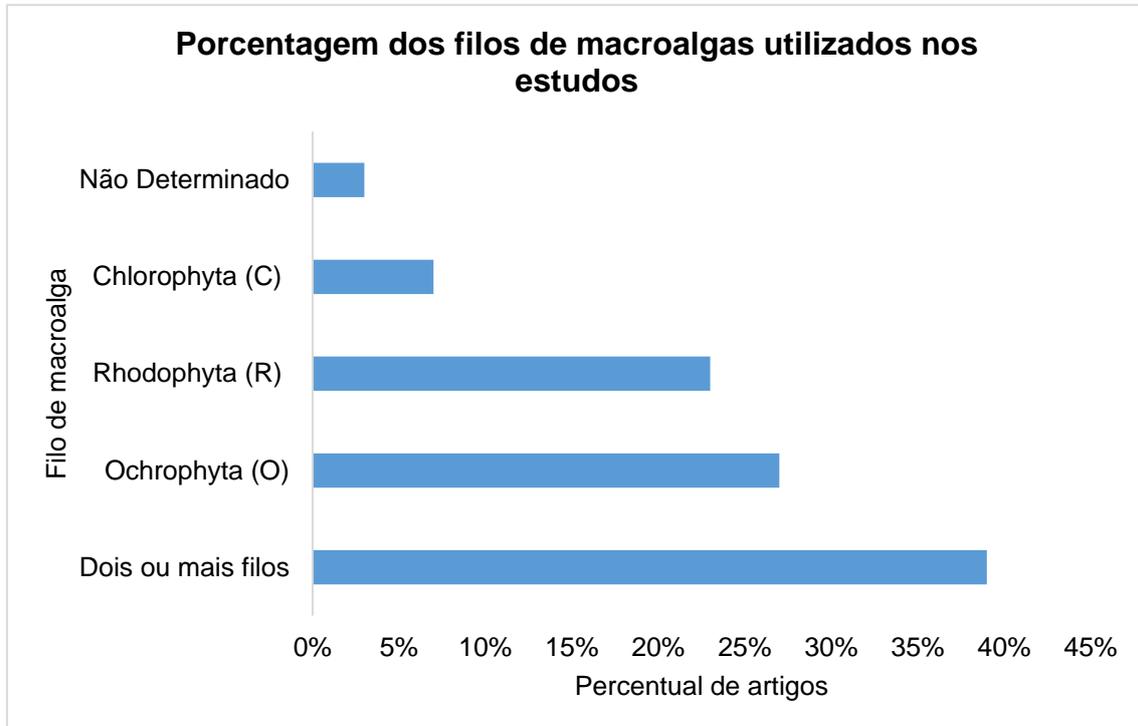


Fonte: próprio autor (feito no biblioshiny RStudio)

A maioria dos artigos selecionados isolou bactérias a partir de dois ou mais filamentos de macroalgas (n = 29; 39 %) (Figura 19). Tendo em vista que a interação bactéria-macroalga tende a ser espécie específica (LACHNIT *et al.*, 2011), essa estratégia permite ampliar a biodiversidade microbiana acessada. Além disso, dos 73 artigos analisados nesta revisão, 27 % isolaram bactérias associadas exclusivamente ao filo Ochrophyta, 23 % apenas ao filo Rhodophyta e 7 % apenas ao filo Chlorophyta (Figura 16). A mesma tendência é observada para os estudos de metabólitos especiais em macroalgas marinhas, sendo as algas pardas e vermelhas as mais estudadas (PELLETREAU; TARGETT, 2008). Dois dos 73 artigos analisados nessa

revisão não determinaram a macroalga de onde as bactérias foram isoladas, pois utilizaram estirpes presentes em coleções ou devido ao isolamento ter sido feito em estudos anteriores.

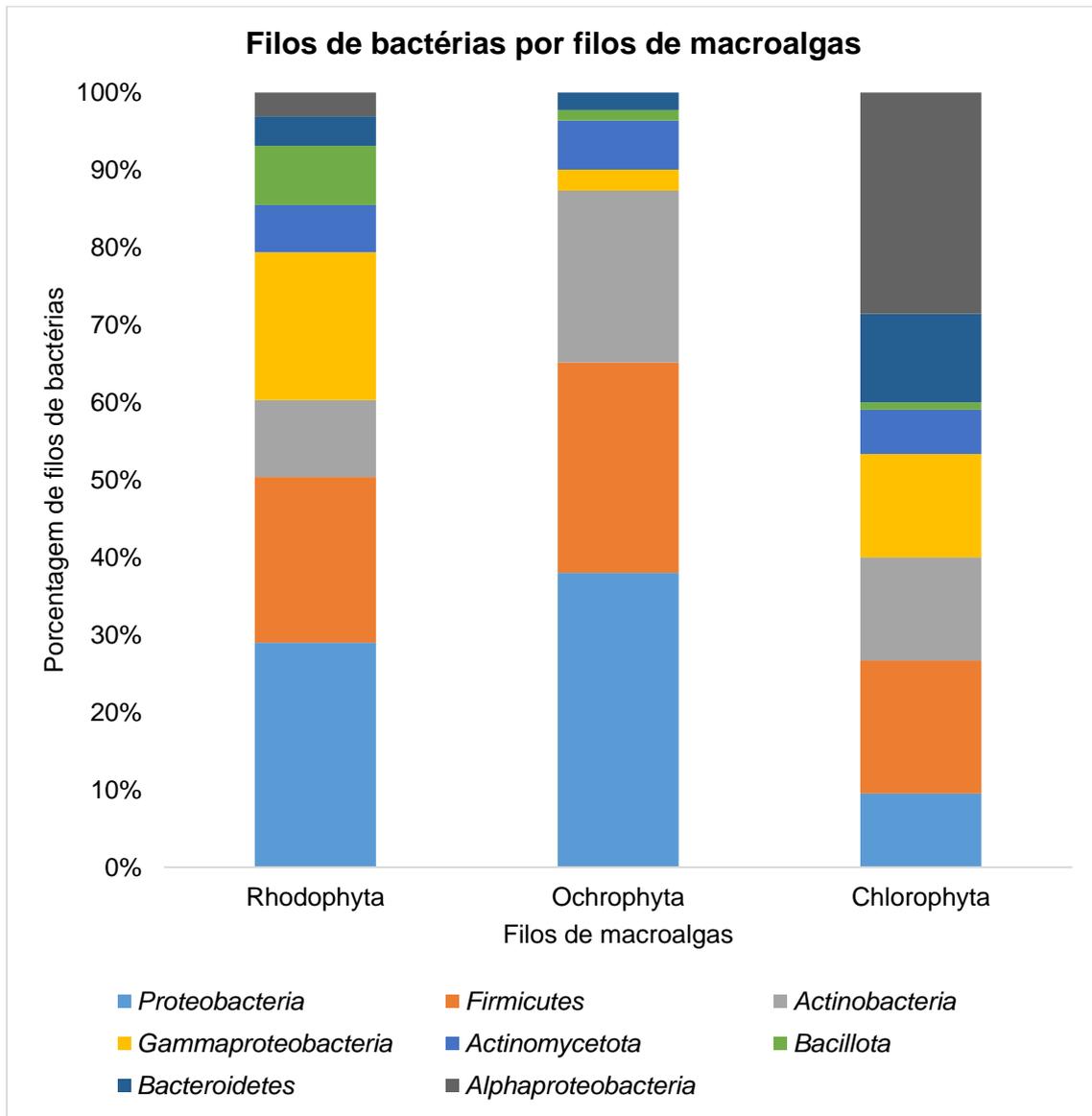
Figura 19: Distribuição dos estudos de acordo com o filo de macroalga utilizado.



A identificação das espécies bacterianas associadas às macroalgas foi realizada em 93 % dos estudos, utilizando diversos métodos e níveis de classificação taxonômica.

Os filos bacterianos mais abundantes nos artigos publicados foram *Proteobacteria* (n = 132; 29 %), seguido de *Firmicutes* (n = 106; 23 %). O filo *Proteobacteria* é comumente encontrado em associação à macroalgas em ambientes marinhos (MANCUSO *et al.*, 2016). Nos estudos analisados nesta revisão, todos os filos de bactérias foram encontrados associados aos três distintos filos de macroalgas, com exceção do filo *Alphaproteobacteria* que não foi relatado nas macroalgas pardas (filo Ochrophyta) (Figura 20).

Figura 20: Filos de bactérias encontrados associados aos três filos de macroalgas.



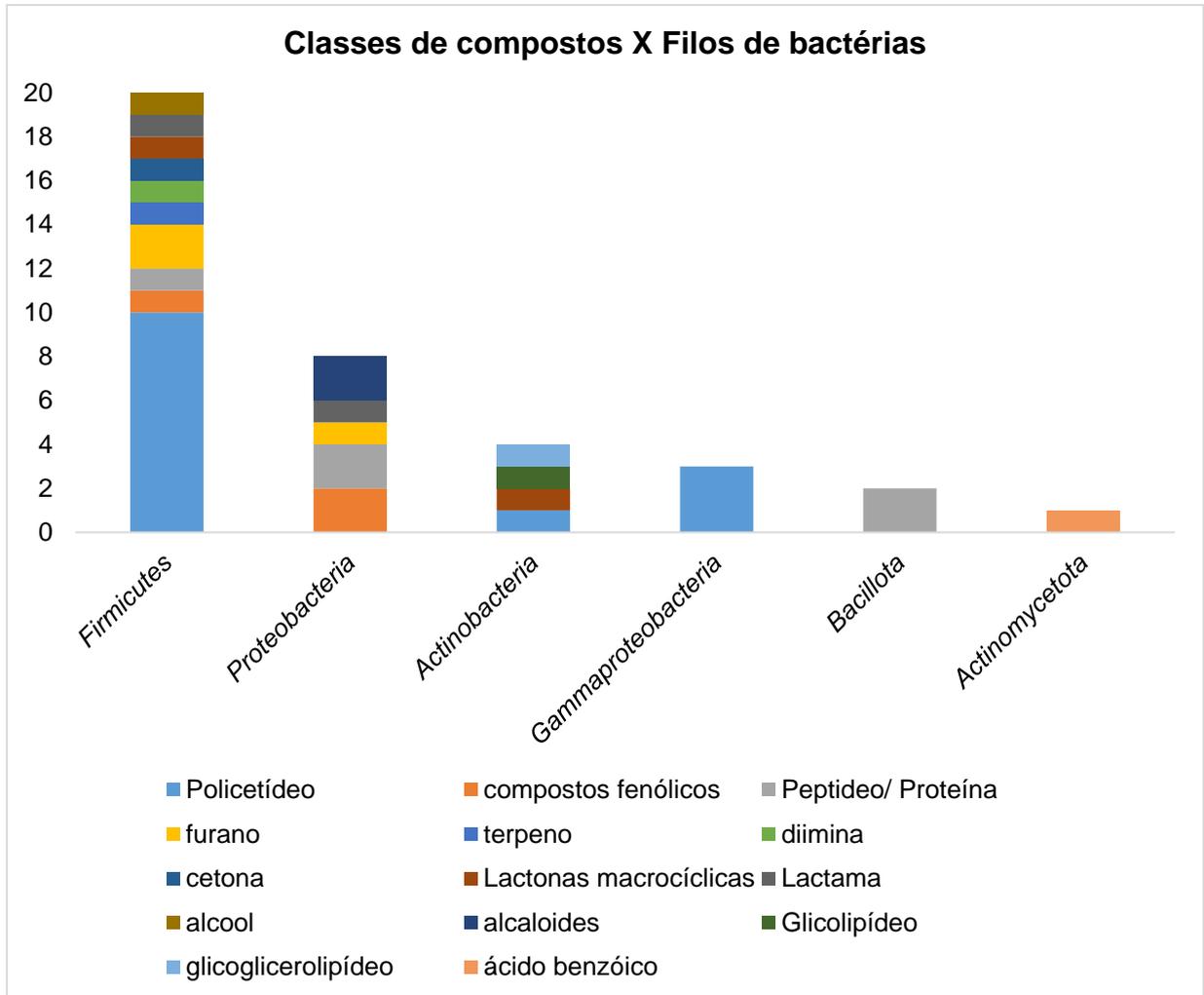
Na presente revisão, os artigos avaliaram a atividade antibacteriana das bactérias associadas às macroalgas, o filo bacteriano mais ativo foi *Proteobacteria*, seguido de *Firmicutes* e *Actinobacteria*. Determinados estudos também avaliaram outros tipos de atividades das bactérias associadas além da antibacteriana, como antitumoral (VILLARREAL-GÓMEZ *et al.*, 2010; BRAÑA *et al.*, 2015; GIRÃO *et al.*, 2019; HORTA *et al.*, 2019), antioxidante (HORTA *et al.*, 2014; KIZHAKKEKALAM; CHAKRABORTY, 2019; KIZHAKKEPATT KIZHAKKEKALAM; CHAKRABORTY; JOY, 2020), antibiofilme (PADMAVATHI; ABINAYA; PANDIAN, 2014; VIJU *et al.*, 2014; VISZWAPRIYA *et al.*, 2016), anti-inflamatória (BRAÑA *et al.*, 2015;

KIZHAKKEKALAM; CHAKRABORTY, 2019), entre outras. Porém, embora os trabalhos tenham avaliado os diferentes potenciais biotecnológicos, menos da metade identificou os compostos bioativos produzidos pelas bactérias (n = 33; 45 %). Aqueles que identificaram, encontraram os policetídeos como classe de compostos mais abundantes (n = 14; 42 %). Os policetídeos apresentam uma incrível diversidade estrutural e antimicrobiana, e estão entre os metabólitos com maior taxa de eficiência, apresentando diversas aplicabilidade, como antibióticos e antifúngicos (ANDRYUKOV; MIKHAILOV; BESEDNOVA, 2019; PAULO; SIGRIST; DE OLIVEIRA, 2019).

O filo bacteriano que apresentou a maior variedade na produção de compostos foi o *Firmicutes*, seguido do *Proteobacteria* (Figura 21). O filo *Firmicutes* foi relatado nos estudos analisados como sendo produtor de compostos das seguintes classes: policetídeos, compostos fenólicos, peptídeos/proteínas, furanos, terpenos, diiminas, cetonas, lactonas macrocíclicas, lactama e álcool.

Os fillos *Gammaproteobacteria*, *Bacillota* e *Actinomycetota* foram os menos diversos na produção de compostos. *Gammaproteobacteria* foi relatado como produtor de três diferentes policetídeos, já o filo *Bacillota* de dois peptídeos/proteínas e o filo *Actinomycetota* de um ácido benzóico.

Figura 21: Classes de compostos produzidos pelos filos de bactérias encontrados nos estudos analisados nesta revisão.



3.3.1. Atividade anti-incrustante

Dentre os artigos analisados, 13,7 % reportaram uma atividade anti-incrustante para as bactérias associadas à macroalgas (Tabela 7). Quatro destes trabalhos identificaram as substâncias produzidas pelas bactérias responsáveis pela atividade anti-incrustante (CHO, 2012; NAGEL *et al.*, 2012; PADMAVATHI; ABINAYA; PANDIAN, 2014; ZIESCHE *et al.*, 2015). O trabalho publicado por Cho (2012), identificou um glicoglicerolípido isolado do actinomiceto marinho *Streptomyces coelestis*, capaz de inibir o crescimento das bactérias incrustantes *Alteromonas* sp. e *Pseudomonas aeruginosa*, além de outros organismos incrustantes como diatomáceas, zoósporo de *Ulva* e mexilhão. Similarmente, Ziesche e colaboradores (2015) também encontraram duas substâncias, (9Z)-C16:1-NAME e (7Z)-C14:1-HSL,

que funcionaram como autoindutores de *quorum sensing*, produzidos por quatro gêneros de bactérias: *Loktanella*, *Sulfitobacter*, *Jannaschia* e *Roseovarius* que mostraram alta atividade antialgal contra *Skeletonema costatum*. Entretanto, a sua atividade antibacteriana contra *Pseudonocardiaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Oceanospirillaceae* e *Maribacter* sp. foi baixa.

Tabela 7: Atividade anti-incrustante de bactérias associadas à macroalgas, descritas em artigos científicos.

Bactérias produtoras de substâncias anti-incrustantes	Substâncias ativas	Cepas indicadoras	Referência
Não identificadas	Não determinadas	Bactérias incrustadas de várias superfícies	BOYD <i>et al</i> 1999
<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	Não determinadas	<i>Galionella</i> sp., <i>Alteromonas</i> sp. e <i>Pseudomonas</i> sp.	Viju <i>et al</i> 2014
Gêneros <i>Loktanella</i> , <i>Sulfitobacter</i> , <i>Jannaschia</i> , e <i>Roseovarius</i>	(9Z)-C16:1-NAME e (7Z)-C14:1-HSL	<i>Pseudonocardiaceae</i> , <i>Phyllobacteriaceae</i> , <i>Oceanospirillaceae</i> , <i>Maribacter</i> sp. 62-1	Ziesche <i>et al</i> 2015
	2R-1,2-di-12-methylhexadecanoic acid-3-O-[β-D-galactopyranosyl-(1''-6')-O-β-D-galactopyranosyl]-glycerol, 2R-1-12-methylhexadecanoic acid-2-hydroxyl-3-O-[β-D-galactopyranosyl-(1''-6')-O-β-D-galactopyranosyl]-glycerol, 2R-1,2-di-12-methylhexadecanoic acid-3-O-β-D-galactopyranosyl-glycerol, and 2R-1,2-di-14-methylhexadecanoic acid-3-O-β-D-galactopyranosyl-glycerol	<i>Alteromonas</i> sp. KNS-8 e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> KNP-3	Cho 2012
<i>Streptomyces coelestis</i>			
<i>Pseudoalteromonas tunicata</i> e <i>Phaeobacter</i> sp. estirpe 2.10 (anteriormente <i>Roseobacter gallaeciensis</i>)	Não determinadas	<i>Pseudoalteromonas gracilis</i> , <i>Alteromonas</i> sp., e <i>Cellulophaga fucicola</i>	Rao <i>et al</i> 2007
<i>Vibrio</i> sp. e <i>Exiguobacterium</i> sp.	Não determinadas	Bactérias incrustantes isoladas de superfícies rochosas	Chandan jain <i>et al</i> 2013
<i>Vibrio alginolyticus</i> strain G16	phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	<i>Serratia marcescens</i> FJ584421 e <i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	PADMAVAT HI <i>et al</i> 2014
<i>Pseudomonas protegens</i> strain LD120	2,4-diacetylphloroglucinol	<i>Pseudoalteromonas elyakovii</i> e <i>Algicola bacteriolytica</i>	Nagel <i>et al</i> 2012
<i>Bacillus</i> sp. ICN-SS01	Não determinadas	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Vibrio parahemolyticus</i> e <i>Vibrio</i>	Rajasree <i>et al</i> 2012

		<i>harveyi</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Galionella</i> sp. e <i>Alteromonas</i> sp	
<i>γ-Proteobacteria</i>	Não determinadas	Atividade antagônica contra outras bactérias isoladas dos mesmos substratos	AVENDAÑO-HERRERA et al 2005

Os gêneros bacterianos *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas* e *Pseudomonas* foram os mais usados como indicadores nos artigos que investigaram atividade anti-incrustante. Além disso, alguns trabalhos utilizaram como indicadoras bactérias incrustadas isoladas de superfícies rochosas ou bactérias isoladas dos mesmos substratos onde as macroalgas foram coletadas (BOYD; ADAMS; BURGESS, 1999; AVENDAÑO-HERRERA; LODY; RIQUELME, 2005; CHANDAN JAIN; SIVAKUMAR; MALAIYARASA PANDIAN, 2013).

Os gêneros bacterianos *Pseudomonas* e *Vibrio* foram identificados como bactérias bioativas em dois diferentes trabalhos. Isso sugere que essas bactérias podem ser produtoras de substâncias com ação anti-incrustante. *Pseudomonas* foi identificada como bactéria produtora de substância anti-incrustante nos trabalhos de Nagel e colaboradores (2012) e Viju e colaboradores (2014). Entretanto, somente no trabalho de Nagel e colaboradores (2012) a substância bioativa foi identificada, tratando-se de um fenol.

3.3.2. Atividade contra bactérias patogênicas de relevância para a agricultura

Das 73 publicações que investigaram bactérias associadas à macroalgas, duas deram ênfase à atividade antibacteriana contra fitopatógenos. O trabalho de Suvega e Arunkumar (2019) isolou uma proteína com 66 Quilodaltons (kDa) da bactéria *Lysinibacillus xylanilyticus* que foi encontrada associada à macroalga vermelha *Gracilaria edulis*. Esta proteína foi capaz de inibir o crescimento do fitopatógeno *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, que causa a ferrugem bacteriana do arroz e resulta em até 50 % de perda de rendimento da produção agrícola.

Outra substância encontrada com ação antibacteriana contra fitopatógenos é Pirrolo[1,2-a pyrazine-1,4 dione hexahydro-3-(phenyl-methyl), produzida pela bactéria *Bacillus subtilis* associada à macroalga parda *Sargassum wightii*. Esse

biocomposto apresentou atividade antibiótica contra *Pseudomonas syringae*, importante fitopatógeno das principais culturas com interesse agrícola e econômico, como tomate, abobrinha e melancia, por exemplo (RASHEED; MIRANDA; THOMAS, 2020). Ambos os trabalhos publicados com ênfase em fitopatógenos são recentes e esta é uma área que necessita ser melhor investigada, já que as bactérias associadas às macroalgas mostraram promissora atividade contra esse tipo de patógenos.

3.3.3. Atividade contra bactérias patogênicas de relevância para a aquacultura

No total, cinco publicações investigaram a atividade antibacteriana de bactérias associadas à macroalgas contra patógenos de pescados (ex: peixes, crustáceos e moluscos) (Tabela 8). As espécies do gênero *Vibrio* foram as mais utilizadas como bactérias teste nesse tipo de estudos, visto que esse gênero é frequentemente associado a doenças em organismos aquáticos, principalmente peixes, camarões, moluscos bivalves e caranguejos (INA-SALWANY *et al.*, 2019). Espécies de *Aeromonas* também foram usadas por alguns estudos como indicadoras. Esse gênero abrange patógenos oportunistas para seres humanos e animais, que são considerados agentes de intoxicação alimentar (GONÇALVES PESSOA *et al.*, 2019).

Tabela 8: Atividade de bactérias associadas à macroalgas contra bactérias de interesse na aquacultura.

Bactérias com atividade contra patógenos da aquacultura	Substância ativa	Cepas indicadoras	Referência
<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	Não determinada	<i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. alcaligenes</i> , <i>V. fischeri</i> , <i>V. harveyi</i> , <i>V. alginolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. fischeri</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. anguillarum</i> , <i>V. campbellii</i> , <i>V. splendidus</i>	Sugathan <i>et al</i> 2012
<i>Enterococcus</i> sp. e <i>Rugeria</i> sp.	Não determinada	<i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>A. hydrophila</i> e <i>Vibrio tapetis</i>	Ismail <i>et al</i> 2018
<i>Brevibacterium</i> , <i>Nocardiopsis</i> , <i>Allokutzneria</i> e <i>Brachybacterium</i>	Não determinada	<i>Vibrio alginolyticus</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Ulfah <i>et al</i> 2021
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Bacteriocina (8 kDa)	<i>Aeromonas hydrophilla</i> , <i>Vibrio harveyi</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Suresh <i>et al</i> 2014

<i>Bacillus pumilus</i>	Não determinada	<i>Vibrio proteolyticus</i> , <i>V. vulnificu</i> , <i>V. fluvialis</i> , <i>V. (Aliivibrio) logei</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. pectenica</i> , <i>V. pectenica</i> , <i>V. salmonica</i> , <i>V. splendidus</i>	Ismail <i>et al</i> 2016
-------------------------	-----------------	--	--------------------------

Por serem poucos os trabalhos encontrados que enfatizaram o campo da aquacultura, nenhum gênero bacteriano foi encontrado em mais de um artigo. Vale destacar, ainda, que apenas o trabalho de Suresh *et al.* (2014) caracterizou a substância ativa, uma bacteriocina de 8kDa produzida pela bactéria *Staphylococcus haemolyticus* associada à macroalga *Padina tetrastomatica*. Mais pesquisas são necessárias, especialmente no sentido de identificar as substâncias ativas, afim de expandir as possibilidades de utilização de metabólitos produzidos por bactérias associadas à macroalgas como antibacteriano para a aquacultura.

3.3.4. Atividade contra patógenos humanos

O maior número de trabalhos encontrados nesta revisão investiga bactérias associadas às macroalgas com atividade antibacteriana contra patógenos humanos. Por essa ser uma área de grande interesse para a saúde pública e com maiores financiamentos, acaba por se destacar.

Dentre as bactérias teste mais utilizadas nesse tipo de estudo, se destacam as bactérias envolvidas em infecções causadas por alimentos (*Escherichia coli* e *Salmonella* spp.) e resistentes a antibióticos (*Staphylococcus aureus* resistente à metilicina e *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina). Outras cepas como *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* também foram bem citadas nos trabalhos analisados.

Importantes trabalhos publicados recentemente, identificaram vários policetídeos que mostraram resultados promissores contra diferentes patógenos humanos (Kizhakkekalam e Chakraborty 2020; Chakraborty, Kizhakkekalam e Joy 2021; Chakraborty *et al* 2021; Chakraborty, Kizhakkekalam e Joy. 2021; Chakraborty, Kizhakkekalam e Joy 2022). Em especial, um trabalho publicado por Braña *et al* (2019), isolou desertomicina G de culturas do actinomiceto marinho *Streptomyces althioticus* MSM3, isolado de amostras da macroalga verde *Ulva* sp. Esse novo

produto natural apresentou forte atividade antibiótica contra vários patógenos resistentes à antibióticos clinicamente relevantes, como os isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes à antibióticos. A desertomicina G também mostrou fortes atividades antibióticas contra outros patógenos clínicos relevantes tanto Gram-positivos como Gram-negativos. Além disso, esse composto afetou a viabilidade de linhagens de células tumorais, como adenocarcinoma de mama humano (MCF-7) e carcinoma de cólon (DLD-1).

Lactonas macrocíclicas, identificadas como análogos de difficidina, foram purificadas da bactéria marinha *Bacillus amyloliquefaciens* isolada da macroalga *Kappaphycus alvarezii*. Esse composto apresentou atividade antibacteriana promissora contra *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e outras cepas resistentes a medicamentos, como *Klebsiella pneumonia* e *Pseudomonas aeruginosa* com a concentração inibitória mínima de cerca de $2-9 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ (Chakraborty *et al* 2021).

Portanto, a análise dos artigos selecionados aponta para o elevado potencial das bactérias associadas à macroalgas marinhas como uma fonte praticamente inexplorada de novas substâncias com potencial para combater bactérias multirresistentes.

3.3.5. Recomendações para Estudos futuros

De maneira geral, as pesquisas com bactérias associadas à macroalgas se concentram no oriente, e necessitam ser mais exploradas à nível mundial de forma a incluir ambientes com alta biodiversidade e com condições extremas, que potencialmente abrigam microrganismos produtores de substâncias bioativas até então desconhecidas. Tais estudos devem contemplar, também, um maior número de espécies de macroalgas, para as quais não há informação referente aos seus microssimbiontes.

Outra questão que precisa ser levada em consideração é a padronização na metodologia utilizada para a identificação das bactérias associadas às macroalgas, de forma a gerar resultados comparáveis. Os vários trabalhos publicados apresentam os dados de identificação bacteriana em níveis taxonômicos diferentes, por isso, faz-

se necessário o agrupamento no maior nível taxonômico quando há necessidade de comparação. Os trabalhos mais antigos nesta área utilizavam ensaios bioquímicos e morfologia (celular e colonial) para a identificação das bactérias. Após a expansão das técnicas moleculares, essa passou a ser a técnica mais empregada na identificação desses microrganismos. O gene RNAr 16S vêm sendo amplamente utilizado com essa finalidade e é considerado o método de referência para a identificação bacteriana (WINAND *et al.*, 2020; LOCHER *et al.*, 2022). Entretanto, tem sido apontada a necessidade de incluir outros marcadores taxonômicos ou empregar uma combinação com outras técnicas como, por exemplo, MALDI-TOF (sigla em inglês *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of Flight*) com o propósito de confirmar tal identificação (STREJCEK *et al.*, 2018).

Em relação à identificação das substâncias produzidas pelas bactérias, fazem-se necessários maiores investimentos, uma vez que, menos da metade dos artigos encontrados nessa revisão caracterizaram as substâncias produzidas por esses microrganismos. A maioria dos trabalhos não dá continuidade à pesquisa e, apesar de encontrarem bons resultados, não se aprofundam, ficando apenas na parte de prospecção, o que impede o aproveitamento de seu potencial biotecnológico.

Sabemos que pesquisas para descobertas de novos antimicrobianos, por exemplo, demandam tempo e investimentos financeiros. E por essa razão, podem levar muitos anos até que um novo composto seja comercializado. Além disso, para que as pesquisas não parem na etapa inicial de prospecção, é necessário que se aplique a interdisciplinaridade, na qual profissionais de várias áreas como químicos, microbiologistas, farmacêuticos entre outros, trabalhem em conjunto com o intuito de progredirem nas descobertas e concluírem a pesquisa.

Desta forma, esperamos que estas recomendações contribuam para que as pesquisas nessa área evoluam e sejam capazes de gerar resultados satisfatórios para o desenvolvimento de novos compostos antibacterianos ambientalmente sustentáveis e economicamente viáveis.

3.4. CONCLUSÃO

Artigos científicos publicados sobre bactérias associadas à macroalgas marinhas são abundantes. No entanto, nenhuma revisão sistemática havia sido feita até então para organizar esse conhecimento. Em nossa pesquisa, resumimos essas informações para entendermos quais os próximos passos necessários para avançar nesta área bastante promissora. Nossos resultados mostram que as bactérias associadas às macroalgas apresentam potencial para o desenvolvimento de novos compostos antibacterianos. Entretanto, faz-se necessário o aprofundamento das pesquisas principalmente na identificação e caracterização química das substâncias bioativas produzidas pelas bactérias. Além disso, constatamos a necessidade de estabelecer uma padronização metodológica, a fim de tornar mais fácil a comparação dos resultados. Desta forma, esperamos que esses resultados contribuam para o desenvolvimento de novos estudos a serem feitos nesta promissora área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL MALIK, S. A. et al. **Defence on surface: macroalgae and their surface-associated microbiome**. [s.l.] Elsevier, 2020. v. 95
- AIRES, T.; SERRÃO, E. A.; ENGELEN, A. H. Host and environmental specificity in bacterial communities associated to two highly invasive marine species (genus *Asparagopsis*). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. APR, p. 1–14, 2016.
- ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, p. 3389–3402, 1997.
- AMALINA, N. Z. et al. Prevalence , antimicrobial susceptibility and plasmid profiling of *Vibrio* spp . isolated from cultured groupers in Peninsular Malaysia. p. 1–15, 2019.
- AMARANTE, J. F. et al. RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE BACTÉRIAS OBTIDAS DE CARPAS (*Cyprinus carpio*) CULTIVADAS EM SISTEMA SEMI-INTENSIVO ANTIMICROBIAL DRUGS RESISTANCE OF BACTERIA FROM CARP (*Cyprinus Carpio*) RAISED IN A SEMI- INTENSIVE SYSTEM. **Cienc. anim. bras.**, v. 19, n. 27, p. 1–7, 2018.
- ANDRYUKOV, B.; MIKHAILOV, V.; BESEDNOVA, N. The biotechnological potential of secondary metabolites from marine bacteria. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 7, n. 6, p. 1–16, 2019.
- ARIAS, C. A.; MURRAY, B. E. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 4, p. 266–278, 2012.
- ARMSTRONG, E. et al. The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. **Hydrobiologia**, v. 461, p. 37–40, 2001.
- AVENDAÑO-HERRERA, R.; LODY, M.; RIQUELME, C. E. Producción de substancias inhibitorias entre bacterias de biopelículas en substratos marinos. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 40, n. 2, p. 117–125, 2005.
- BARZKAR, N. et al. Metabolites from marine microorganisms, micro, and macroalgae: Immense scope for pharmacology. **Marine Drugs**, v. 17, n. 8, 2019.
- BATISTA, D. et al. Extracts of macroalgae from the Brazilian coast inhibit bacterial quorum sensing. **Botanica Marina**, v. 57, n. 6, p. 441–447, 2014a.
- BATISTA, D. et al. Extracts of macroalgae from the Brazilian coast inhibit bacterial quorum sensing. **Botanica Marina**, v. 57, n. 6, p. 441–447, 2014b.
- BATISTA, D. et al. Distribution of the invasive orange cup coral *tubastraea coccinea* lesson, 1829 in an upwelling area in the South Atlantic Ocean fifteen years after its first record. **Aquatic Invasions**, v. 12, n. 1, p. 23–32, 2017.
- BEN-HAIM, Y. et al. *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature-dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 309–315, 2003.
- BENGTSSON, M. M. et al. Utilization of kelp-derived carbon sources by kelp surface-associated bacteria. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 62, n. 2, p. 191–199, 2011.
- BENGTSSON, M. M. et al. Bacterial diversity in relation to secondary production and succession on surfaces of the kelp *Laminaria hyperborea*. **ISME Journal**, v. 6, n. 12,

p. 2188–2198, 2012.

BHADURY, P.; WRIGHT, P. C. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. **Planta**, v. 219, n. 4, p. 561–578, 2004.

BIBB, M. J. Regulation of secondary metabolism in streptomycetes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 208–215, 2005.

BOAVENTURA, M. A. D.; LOPES, R. F. A. P.; TAKAHASHI, J. A. Microorganisms as tools in modern chemistry: The biotransformation of 3-indolylacetonitrile and tryptamine by fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 345–347, 2004.

BONDOSO, J. et al. Epiphytic Planctomycetes communities associated with three main groups of macroalgae. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 3, p. 1–9, 2017.

BOYD, K. G.; ADAMS, D. R.; BURGESS, J. G. Antibacterial and repellent activities of marine bacteria associated with algal surfaces. **Biofouling**, v. 14, n. 3, p. 227–236, 1999a.

BOYD, K. G.; ADAMS, D. R.; BURGESS, J. G. Antibacterial and repellent activities of marine bacteria associated with algal surfaces. **Biofouling**, v. 14, n. 3, p. 227–236, dez. 1999b.

BRAÑA, A. F. et al. Two *Streptomyces* species producing antibiotic, antitumor, and anti-inflammatory compounds are widespread among intertidal macroalgae and deep-sea coral reef invertebrates from the central Cantabrian Sea. **Microbial ecology**, v. 69, n. 3, p. 512–524, abr. 2015.

BRESSY, C. et al. Optimized silyl ester diblock methacrylic copolymers: A new class of binders for chemically active antifouling coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 77, n. 3, p. 665–673, 2014.

BURGESS, J. G. et al. Microbial antagonism: a neglected avenue of natural products research. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 35, n. C, p. 27–32, 1999.

BURRIDGE, L. et al. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306, n. 1–4, p. 7–23, 2010.

BYAPPANAHALLI, M. N. et al. Enterococci in the Environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, n. 4, p. 685–706, 2012.

CAMPBELL, A. H. et al. Climate change and disease: Bleaching of a chemically defended seaweed. **Global Change Biology**, v. 17, n. 9, p. 2958–2970, 2011.

CARVALHO, A. P. et al. Extracts of seaweeds as potential inhibitors of quorum sensing and bacterial growth. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 789–797, 2017.

CASE, R. J. et al. Temperature induced bacterial virulence and bleaching disease in a chemically defended marine macroalga. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 2, p. 529–537, 2011.

CHA, H.-J. et al. Culturable Fungal Community of *Pterocliadiella capillacea* in Keelung, Taiwan: Effects of Surface Sterilization Method and Isolation Medium. **J. Fungi**, v. 7, n. 651, p. 1–16, 2021.

CHAKRABORTY, K. et al. Antibacterial polyketides from *Bacillus amyloliquefaciens* associated with edible red seaweed *Laurenciae papillosa*. **Food Chemistry**, v. 218, p.

427–434, 2017.

CHAKRABORTY, K.; KIZHAKKEKALAM, V. K.; JOY, M. Polyketide-derived macrobrevins from marine macroalga-associated *Bacillus amyloliquefaciens* as promising antibacterial agents against pathogens causing nosocomial infections. **Phytochemistry**, v. 193, p. 112983, jan. 2022.

CHAKRABORTY, K.; THILAKAN, B.; RAOLA, V. K. Polyketide family of novel antibacterial 7-O-methyl-5'-hydroxy-3'-heptenoate-macrolactin from seaweed-associated *Bacillus subtilis* MTCC 10403. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 50, p. 12194–12208, 2014.

CHAKRABORTY, K.; THILAKAN, B.; RAOLA, V. K. Antimicrobial polyketide furanoterpenoids from seaweed-associated heterotrophic bacterium *Bacillus subtilis* MTCC 10403. **Phytochemistry**, v. 142, p. 112–125, 2017.

CHAKRABORTY, K.; THILAKAN, B.; RAOLA, V. K. Previously Undescribed Antibacterial Polyketides from Heterotrophic *Bacillus amyloliquefaciens* Associated with Seaweed *Padina gymnospora*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 184, n. 2, p. 716–732, 2018.

CHAMBERS, L. D. et al. Investigation of *Chondrus crispus* as a potential source of new antifouling agents. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 7, p. 939–946, 2011.

CHANDAN JAIN, S.; SIVAKUMAR, A. J.; MALAIYARASA PANDIAN, P. Surface associated bacteria of marine algae in Kovalam beach, Chennai, had screened for its antifouling activity. **Indian Journal of Marine Sciences**, v. 42, n. 4, p. 498–502, 2013.

CHARLOP-POWERS, Z. et al. Global biogeographic sampling of bacterial secondary metabolism. **eLife**, v. 2015, n. 4, p. 1–10, 2015.

CHELLARAM, C. et al. Antagonistic effect of epiphytic bacteria from marine algae, Southeastern India. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 16, n. 9, p. 431–434, 2013.

CHEN, J. et al. Quorum sensing inhibitors from marine microorganisms and their synthetic derivatives. **Marine Drugs**, v. 17, n. 2, 2019.

CHEN, M. Y.; PARFREY, L. W. Incubation with macroalgae induces large shifts in water column microbiota, but minor changes to the epibiota of co-occurring macroalgae. **Molecular Ecology**, v. 27, n. 8, p. 1966–1979, 2018.

CHIMETTO, L. A. et al. *Vibrio variabilis* sp. nov. and *vibrio maritimus* sp. nov., isolated from *palythoa caribaeorum*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. 12, p. 3009–3015, 2011.

CHISHOLM, J. R. M. et al. “Roots” in mixotrophic algae. **Nature**, v. 381, n. 6581, p. 382, 1996.

CHO, J. Y. Glycoglycerolipids isolated from marine derived streptomycetes *coelestis* PK206-15. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 76, n. 9, p. 1746–1751, 2012.

CHO, J. Y.; KIM, M. Induction of Antifouling Diterpene Production by *Streptomyces cinnabarinus* PK209 in Co-Culture with Marine-Derived *Alteromonas* sp. KNS-16

Induction of Antifouling Diterpene Production by *Streptomyces cinnabarinus*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 76, n. 10, p. 1849–1854, 2012.

CIRANO, M. et al. A circulação oceânica de larga-escala na região oeste do Atlântico Sul com base no modelo de circulação Global OCCAM. **Rev. Bras. Geof.**, v. 24, p. 209–230, 2006.

COELHO-SOUZA, S. A. et al. Bacterial and archaeal communities variability associated with upwelling and anthropogenic pressures in the protection area of Arraial do Cabo (Cabo Frio region - RJ). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 3, p. 1737–1750, 2015.

COELHO, M. R.; LANGSTON, W. J.; BEBIANNO, M. J. Effect of TBT on *Ruditapes decussatus* juveniles. **Chemosphere**, v. 63, n. 9, p. 1499–1505, 2006.

COMBA GONZÁLEZ, N. et al. Production of enzymes and siderophores by epiphytic bacteria isolated from the marine macroalga *Ulva lactuca*. **Aquatic Biology**, v. 27, p. 107–118, 2018.

COTTER, P. D.; ROSS, R. P.; HILL, C. Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 2, p. 95–105, 2013.

CROFT, M. T. et al. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. **Nature**, v. 438, n. 7064, p. 90–93, 2005.

CUADRAT, R. R. C.; CURY, J. C.; DÁVILA, A. M. R. Metagenomic analysis of upwelling-affected Brazilian coastal seawater reveals sequence domains of type I PKS and modular NRPS. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 12, p. 28285–28295, 2015.

CURY, J. C. et al. Microbial diversity of a Brazilian coastal region influenced by an upwelling system and anthropogenic activity. **PLoS ONE**, v. 6, n. 1, 2011.

DA GAMA, B. A. P. et al. Antifouling activity of natural products from Brazilian seaweeds. **Botanica Marina**, v. 51, n. 3, p. 191–201, 2008.

DA GAMA, B. A. P.; PLOUGUERNÉ, E.; PEREIRA, R. C. The antifouling defence mechanisms of marine macroalgae. **Advances in Botanical Research**, v. 71, n. February 2016, p. 413–440, 2014.

DA GAMA, B. A. P. et al. The Effects of Seaweed Secondary Metabolites on Biofouling. **Biofouling**, v. 18, n. 1, p. 13–20, 2002.

DAHMS, H. U.; DOBRETSOV, S. Antifouling compounds from marine macroalgae. **Marine Drugs**, v. 15, n. 9, 2017.

DE FOUW, J. et al. Drought, Mutualism Breakdown, and Landscape-Scale Degradation of Seagrass Beds. **Current Biology**, v. 26, n. 8, p. 1051–1056, 2016.

DE GUIMARAENS, M. A.; COUTINHO, R. Spatial and temporal variation of benthic marine algae at the Cabo Frio upwelling region, Rio de Janeiro, Brazil. **Aquatic Botany**, v. 52, n. 4, p. 283–299, 1996.

DE LIMA PROCÓPIO, R. E. et al. Antibiotics produced by *Streptomyces*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 466–471, 2012.

DE PAULA, J. C. et al. Diversity and turnover in a rocky shore intertidal community of

an upwelling region (Arraial do cabo, Brazil). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 2, p. 1–21, 2020.

DICHRISTINALT, T. J.; DELONG, E. F. Design and Application of rRNA-Targeted Oligonucleotide Probes for the Dissimilatory Iron- and Manganese-Reducing Bacterium *Shewanella putrefaciens*. v. 59, n. 12, p. 4152–4160, 1993.

DIGGLE, S. P.; CRUSZ, S. A.; CÁMARA, M. Quorum sensing. **Current Biology**, v. 17, n. 21, p. 907–910, 2007.

DITTAMI, S. M. et al. A community perspective on the concept of marine holobionts: Current status, challenges, and future directions. **PeerJ**, v. 9, p. 1–34, 2021.

DOBRETISOV, S. et al. Allelochemical defense against epibiosis in the macroalga *Caulerpa racemosa* var. *turbinata*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 318, p. 165–175, 2006.

DOBRETISOV, S.; TEPLITSKI, M.; PAUL, V. Mini-review: quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling. **Biofouling**, v. 25, n. 5, p. 413–427, 2009.

DOBRETISOV, S. V; QIAN, P.-Y. Effect of Bacteria Associated with the Green Alga *Ulva reticulata* on Marine Micro- and Macrofouling. **Biofouling**, v. 18, n. 3, p. 217–228, 2002.

DONG, H. et al. Interactions of microplastics and antibiotic resistance genes and their effects on the aquaculture environments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, n. July 2020, p. 123961, 2021.

EGAN, S. et al. The seaweed holobiont: Understanding seaweed-bacteria interactions. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 3, p. 462–476, 2013.

EGAN, S. et al. Bacterial pathogens, virulence mechanism and host defence in marine macroalgae. **Environmental Microbiology**, v. 16, n. 4, p. 925–938, 2014.

EGAN, S.; GARDINER, M. Microbial dysbiosis: Rethinking disease in marine ecosystems. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JUN, p. 1–8, 2016.

EGAN, S.; HOLMSTRÖM, C.; KJELLEBERG, S. *Pseudoalteromonas ulvae* sp. nov., a bacterium with antifouling activities isolated from the surface of a marine alga. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1499–1504, 2001.

EGAN, S.; THOMAS, T.; KJELLEBERG, S. Unlocking the diversity and biotechnological potential of marine surface associated microbial communities. **Current Opinion in Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 219–225, 2008.

EGGERTSEN, L. et al. Seaweed beds support more juvenile reef fish than seagrass beds in a south-western Atlantic tropical seascape. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 196, p. 97–108, 2017.

EL-GENDY, M. M. A.; HAWAS, U. W.; JASPARS, M. Novel bioactive metabolites from a marine derived bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000. **Journal of Antibiotics**, v. 61, n. 6, p. 379–386, 2008.

EPSTEIN, S. S. The phenomenon of microbial uncultivability. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 636–642, 2013.

FAIR, R. J.; TOR, Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, n. 6, p. 25–64, 2014.

FELNAGLE, E. A. et al. Nonribosomal peptide synthetases involved in the production of medically relevant natural products. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p. 191–211, 2008.

FELSENSTEIN, J. Confidence Limits on Phylogenies: an Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 1985.

FERNANDES, N. et al. Genomes and virulence factors of novel bacterial pathogens causing bleaching disease in the marine red alga *Delisea pulchra*. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 2011.

FISCHBACH, M. A.; WALSH, C. T. Assembly-line enzymology for polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: Logic machinery, and mechanisms. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 8, p. 3468–3496, 2006.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, v. 155, n. 6, p. 1749–1757, 2009.

FOSTER, T. J. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 430–449, 2017.

FRASCHETTI, S. et al. The distribution of hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from micro- to macro-scale: Spatial patterns on habitat-forming algae. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 339, n. 2, p. 148–158, 2006.

GAMA, B. A. P.; PEREIRA, R. C.; COUTINHO, R. BIOINCRUSTAÇÃO MARINHA. p. 299–318, 2009.

GAO, G. et al. Using macroalgae as biofuel: Current opportunities and challenges. **Botanica Marina**, v. 63, n. 4, p. 355–370, 2020.

GASTALHO, S.; SILVA, G. J.; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: Impacto em saúde pública Antibiotics in aquaculture and bacterial resistance: Health care impact. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 3, p. 29–45, 2014.

GIRÃO, M. et al. Actinobacteria isolated from laminaria ochroleuca: A source of new bioactive compounds. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. APR, 2019.

GOECKE, F. et al. Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria. **Marine Ecology Progress Series**, v. 409, p. 267–299, 2010.

GOMEZ-BANDERAS, J. Marine Natural Products: A Promising Source of Environmentally Friendly Antifouling Agents for the Maritime Industries. **Frontiers in Marine Science**, v. 9, n. February, p. 1–7, 2022.

GONÇALVES PESSOA, R. B. et al. The genus *Aeromonas*: A general approach. **Microbial Pathogenesis**, v. 130, n. February, p. 81–94, 2019.

GONZÁLEZ, G. D. T.; SIGRIST, R.; PAULO, B. S. Recent advances in genetic manipulation of organisms for the production of nonribosomal peptides. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1998–2025, 2016.

GRONDIN, M. et al. Tributyltin induces apoptotic signaling in hepatocytes through

pathways involving the endoplasmic reticulum and mitochondria. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 222, n. 1, p. 57–68, 2007.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Princípios da Utilização Prudente e Racional de Antimicrobianos em Animais. **Guia De Antimicrobianos Em Veterinária**, n. 1, p. 17–30, 2010.

GUO, Y. et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, n. 107, p. 1–11, 2020.

HABBU, P. et al. Antimicrobial metabolites from marine microorganisms. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 14, n. 2, p. 101–116, 2016.

HADFIELD, M. G. Biofilms and marine invertebrate larvae: what bacteria produce that larvae use to choose settlement sites. **Annual review of marine science**, v. 3, p. 453–470, 2011.

HELLIWELL, K. E. et al. Insights into the evolution of vitamin B 12 auxotrophy from sequenced algal genomes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2921–2933, 2011.

HERTWECK, C. The biosynthetic logic of polyketide diversity. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, n. 26, p. 4688–4716, 2009.

HINOJOSA, I. A. et al. Settlement and early survival of southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, under climate-driven decline of kelp habitats. **ICES Journal of Marine Science**, v. 72, n. 6, p. 59–68, 2015.

HOLLANTS, J. et al. What we can learn from sushi: A review on seaweed-bacterial associations. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 83, n. 1, p. 1–16, 2013.

HOLMSTRÖM, C. et al. Antifouling activities expressed by marine surface associated *Pseudoalteromonas* species. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 41, n. 1, p. 47–58, 2002.

HORTA, A. et al. Antioxidant and antimicrobial potential of the *Bifurcaria bifurcata* epiphytic bacteria. **Marine Drugs**, v. 12, n. 3, p. 1676–1689, 2014.

HORTA, A. et al. Identification of *Asparagopsis armata*-associated bacteria and characterization of their bioactive potential. **MicrobiologyOpen**, v. 8, n. 11, p. 1–9, 2019.

HUG, J. J.; KRUG, D.; MÜLLER, R. Bacteria as genetically programmable producers of bioactive natural products. **Nature Reviews Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 172–193, 2020.

IBRAHIM, H. A. . et al. Seaweeds agarophytes and associated epiphytic bacteria along Alexandria coastline, Egypt, with emphasis on the evaluation and extraction of agar and agarose. **Revista de biología marina y oceanografía**, v. 50, n. 3, p. 545–561, 2015.

INA-SALWANY, M. Y. et al. Vibriosis in Fish: A Review on Disease Development and Prevention. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 31, n. 1, p. 3–22, 2019.

ISMAIL-BEN ALI, A. et al. *Jania rubens*-associated bacteria: Molecular identification and antimicrobial activity. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 3, p. 525–534, 2012.

ISMAIL, A. et al. Antimicrobial activities of bacteria associated with the brown alga *Padina pavonica*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JUL, 2016.

ISMAIL, A. et al. Heterotrophic bacteria associated with the green alga *Ulva rigida*: identification and antimicrobial potential. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 5, p. 2883–2899, 2018.

IVANOVA, E. P. et al. Two species of culturable bacteria associated with degradation of brown algae *Fucus evanescens*. **Microbial Ecology**, v. 43, n. 2, p. 242–249, 2002.

IVANOVA, E. P. et al. *Bacillus algicola* sp. nov., a novel filamentous organism isolated from brown alga *Fucus evanescens*. **Systematic and applied microbiology**, v. 27, n. 3, p. 301–307, 2004.

IYAPPARAJ, P. et al. Antifouling and toxic properties of the bioactive metabolites from the seagrasses *Syringodium isoetifolium* and *Cymodocea serrulata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 103, n. 1, p. 54–60, 2014.

JANAKIDEVI, V. et al. Antagonistic activity of seaweed associated bacteria against human pathogens. **Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci**, v. 2, n. 12, p. 140–147, 2013.

JAVEE, A.; KARUPPAN, R.; SUBRAMANI, N. Bioactive glycolipid biosurfactant from seaweed *Sargassum myriocystum* associated bacteria *Streptomyces* sp. SNJASM6. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, n. June 2019, p. 101505, 2020.

JEGAN S; MANJUSHA W. Antagonistic, Antibacterial and Anticancer Activity of Marine Macroalgae-Associated Bacteria Collected from Kanyakumari coast. **European Journal of Molecular & Clinical Medicine**, v. 7, n. 11, p. 166–175, 2020.

JENKE-KODAMA, H.; MÜLLER, R.; DITTMANN, E. Evolutionary mechanisms underlying secondary metabolite diversity. **Progress in Drug Research**, v. 65, p. 120–140, 2008.

JOINT, I.; TAIT, K.; WHEELER, G. Cross-kingdom signalling: exploitation of bacterial quorum sensing molecules by the green seaweed *Ulva*. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 362, n. 1483, p. 1223–1233, 2007.

KAARIA, P. et al. Antimicrobial Screening of Marine Endophytes and Epiphytes Isolated from Marine Algae of Kenyan Indian Ocean. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 70–74, 2015.

KANAGASABHAPATHY, M. et al. Antibacterial activities of marine epibiotic bacteria isolated from brown algae of Japan. **Annals of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 167–173, 2006.

KANAGASABHAPATHY, M. et al. Presence of quorum-sensing inhibitor-like compounds from bacteria isolated from the brown alga *Colpomenia sinuosa*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 573–579, 2009.

KANAGASABHAPATHY, M.; SASAKI, H.; NAGATA, S. Phylogenetic identification of epibiotic bacteria possessing antimicrobial activities isolated from red algal species of Japan. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 10, p. 2315–2321, 2008.

KARTHIKEYAN, A.; JOSEPH, A.; NAIR, B. G. Promising bioactive compounds from the marine environment and their potential effects on various diseases. **Journal of**

Genetic Engineering and Biotechnology, v. 20, n. 1, 2022.

KEARNS, D. B. A field guide to bacterial swarming motility. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 634–644, 9 set. 2010.

KEITH, S. A.; KERSWELL, A. P.; CONNOLLY, S. R. Global diversity of marine macroalgae: Environmental conditions explain less variation in the tropics. **Global Ecology and Biogeography**, v. 23, n. 5, p. 517–529, 2014.

KHOSHNOOD, S. et al. A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 109, n. October 2018, p. 1809–1818, 2019.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KIZHAKKEKALAM, V. K.; CHAKRABORTY, K. Pharmacological properties of marine macroalgae-associated heterotrophic bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 201, n. 4, p. 505–518, 2019.

KIZHAKKEKALAM, V. K.; CHAKRABORTY, K. Marine macroalgae-associated heterotrophic Firmicutes and Gamma-proteobacteria: prospective anti-infective agents against multidrug resistant pathogens. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 4, p. 905–920, 2020.

KIZHAKKEKALAM, V. K.; CHAKRABORTY, K. Seaweed-associated heterotrophic bacteria: new paradigm of prospective anti-infective and anticancer agents. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 3, p. 1241–1250, 2021.

KIZHAKKEPATT KIZHAKKEKALAM, V.; CHAKRABORTY, K.; JOY, M. Antibacterial and antioxidant aryl-enclosed macrocyclic polyketide from intertidal macroalgae associated heterotrophic bacterium *Shewanella* algae. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, n. 1, p. 145–155, 2020.

KOUZUMA, A.; WATANABE, K. Exploring the potential of algae/bacteria interactions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 33, p. 125–129, 2015.

KUMAR, S. et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 2018.

KUMAR, V. et al. Antidiatom and antibacterial activity of epiphytic bacteria isolated from *Ulva lactuca* in tropical waters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 7, p. 1543–1549, 2011.

KUMAR, V. et al. Multiple opportunistic pathogens can cause bleaching disease of the red seaweed *Delisea pulchra* Vipra. **Environmental microbiology**, v. 18, p. 3962–3975, 2016.

LACHNIT, T. et al. Epibacterial community patterns on marine macroalgae are host-specific but temporally variable. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 3, p. 655–665, 2011.

LACHNIT, T. et al. Compounds associated with algal surfaces mediate epiphytic colonization of the marine macroalga *Fucus vesiculosus*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 84, n. 2, p. 411–420, 2013.

LAGE, O. M.; GRAÇA, A. P. Biofilms: An Extra Coat on Macroalgae. **Algae - Organisms for Imminent Biotechnology**, 2016.

LAM, C.; STANG, A.; HARDER, T. Planktonic bacteria and fungi are selectively eliminated by exposure to marine macroalgae in close proximity. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 63, n. 3, p. 283–291, 2008.

LANARI, M. DE O.; COUTINHO, R. Reciprocal causality between marine macroalgal diversity and productivity in an upwelling area. **Oikos**, v. 123, n. 5, p. 630–640, 2014.

LAPORT, M. S. et al. Culturable bacterial communities associated to Brazilian *Oscarella* species (Porifera: Homoscleromorpha) and their antagonistic interactions. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 110, n. 4, p. 489–499, 2017.

LEE, R. **Basic characteristics of the algae**. [s.l.: s.n.].

LEIVA, S. et al. Diversity of Pigmented Gram-Positive Bacteria Associated with Marine Macroalgae from Antarctica. **FEMS Microbiology Letters Advance**, v. 362, 2015.

LEMOS, M. L.; TORANZO, A. E.; BARJA, J. L. Antibiotic activity of epiphytic bacteria isolated from intertidal seaweeds. **Microbial Ecology**, v. 11, n. 2, p. 149–163, 1985.

LERESCHE, J. E.; MEYER, H. P. Chemocatalysis and biocatalysis (biotransformation): Some thoughts of a chemist and of a biotechnologist. **Organic Process Research and Development**, v. 10, n. 3, p. 572–580, 2006.

LESSA, F. C. et al. Impact of USA300 methicillin-resistant staphylococcus aureus on clinical outcomes of patients with pneumonia or central line-associated bloodstream infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 2, p. 232–241, 2012.

LOCHER, K. et al. Automated 16S Sequencing Using an R-Based Analysis Module for Bacterial Identification. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, 2022.

MA, Y. et al. Inhibition of common fouling organisms in mariculture by epiphytic bacteria from the surfaces of seaweeds and invertebrates. **Acta Ecologica Sinica**, v. 29, n. 4, p. 222–226, 2009.

MALVE, H. Exploring the ocean for new drug developments : Marine pharmacology. **J Pharm Bioall Sci**, v. 8, p. 83–91, 2016a.

MALVE, H. Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 8, n. 2, p. 83–91, 2016b.

MANAM, V. K.; SUBBAIAH, M. PHYTOCHEMICAL, AMINO ACID, FATTY ACID AND VITAMIN INVESTIGATION OF MARINE SEAWEEDS COLPOMENIA SINUOSA AND HALYMENIA PORPHYROIDES COLLECTED ALONG SOUTHEAST COAST OF TAMILNADU, INDIA. v. 9, n. 4, p. 1088–1102, 2020.

MANEFIELD, M. et al. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. **Microbiology**, v. 145, n. 2, p. 283–291, 1999.

MANEFIELD, M. et al. Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. **Microbiology**, v. 148, n. 4, p. 1119–1127, 2002.

MANSSON, M.; GRAM, L.; LARSEN, T. O. Production of bioactive secondary

- metabolites by marine Vibrionaceae. **Marine Drugs**, v. 9, n. 9, p. 1440–1468, 2011.
- MARINHO-SORIANO, E. Historical context of commercial exploitation of seaweeds in Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 665–671, 2017.
- MARINHO, P. R. et al. Marine *Pseudomonas putida*: A potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 5, p. 678–682, 2009.
- MARTÍN-RODRÍGUEZ, A. J. et al. Recent Advances in Novel Antibacterial Development. **Frontiers in Clinical Drug Research: Anti-Infectives**, n. January, p. 3–61, 2016.
- MARTÍNEZ-LARA, P. et al. Granulomatosis in fish aquaculture: a mini review. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 1, p. 259–268, 2021.
- MARTINEZ, J. N.; PADILLA, P. I. P. Isolation and characterization of agar-digesting *Vibrio* species from the rotten thallus of *Gracilariopsis heteroclada* Zhang et Xia. **Marine Environmental Research**, v. 119, p. 156–160, 2016.
- MARTINS, A.; CUNHA, M. D. L. R. S. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci: Epidemiological and molecular aspects. **Microbiology and Immunology**, v. 51, n. 9, p. 787–795, 2007.
- MATHUR, H. et al. Bacteriocin-antimicrobial synergy: A medical and food perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JUN, p. 1–18, 2017.
- MATSUO, Y. ET AL. Isolation of an Algal Morphogenesis. **Science**, v. 307, n. March, p. 1598, 2005.
- MENDONÇA, T. C. D. M.; MORAES, E. A.; COSTA, M. A. M. Turismo e pesca nas Reservas Extrativistas Marinhas de Arraial do Cabo (RJ) e da Prainha do Canto Verde (CE): possibilidades e limites de complementaridade. **Caderno Virtual de Turismo**, v. 13, n. 3, p. 372–390, 2013.
- MIAO, V. et al. Daptomycin biosynthesis in *Streptomyces roseosporus*: Cloning and analysis of the gene cluster and revision of peptide stereochemistry. **Microbiology**, v. 151, n. 5, p. 1507–1523, 2005.
- MIESZKIN, S.; CALLOW, M. E.; CALLOW, J. A. Interactions between microbial biofilms and marine fouling algae: a mini review. **Biofouling**, v. 29, n. 9, p. 1097–1113, 2013.
- MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. **PLoS Medicine**, v. 6, n. 7, 2009.
- MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiol Spectr.**, v. 17, n. C, p. 119–127, 2016.
- MUÑOZ, J.; FOTEDAR, R. Epiphytism of *Gracilaria cliftonii* (Withell, Millar & Kraft) from Western Australia. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 3, p. 371–379, 2010.
- MUSCHOLL-SILBERHORN, A.; THIEL, V.; IMHOFF, J. F. Abundance and bioactivity of cultured sponge-associated bacteria from the Mediterranean Sea. **Microbial Ecology**, v. 55, n. 1, p. 94–106, 2008.
- NAGEL, K. et al. Beneficial effects of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing

pseudomonads on the marine alga *Saccharina latissima*. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 67, n. 3, p. 239–249, 2012.

NARITA, M. et al. No Title. In: **Rapid PCR detection of *Pseudoalteromonas elyakovii*, the causative bacterium of Laminaria spot wound disease in Japan.** [s.l.: s.n.]. p. 989–394.

NEALSON, K. H.; MYERS, C. R. MINIREVIEW Microbial Reduction of Manganese and Iron : New Approaches to Carbon Cycling. v. 58, n. 2, p. 439–443, 1992.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 8, p. 1216–1238, 2004.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. 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.

NURSYAM, H. Antibacterial activity of metabolites products of *Vibrio alginolyticus* isolated from sponge *Haliclona* sp. Against *Staphylococcus aureus*. **Italian Journal of Food Safety**, v. 6, n. 1, p. 18–22, 2017.

NYLUND, G. M.; PAVIA, H. Chemical versus mechanical inhibition of fouling in the red alga *Dilsea carnosa*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 299, p. 111–121, 2005.

O'BRIEN, J.; WRIGHT, G. D. An ecological perspective of microbial secondary metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 552–558, 2011.

O'CONNOR, P. M. et al. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 61, p. 160–167, 2020.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally. **REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE**, 2016.

OLIVEIRA, L. G. DE; PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C. Explorando Produtos Naturais Microbianos nas Fronteiras da Química e da Biologia. **Quim. Nova**, v. 36, n. 10, p. 1577–1586, 2013.

ORHAN, I. et al. Turkish freshwater and marine macrophyte extracts show in vitro antiprotozoal activity and inhibit FabI, a key enzyme of *Plasmodium falciparum* fatty acid biosynthesis. **Phytomedicine**, v. 13, p. 388–393, 2006.

PADMAVATHI, A. R.; ABINAYA, B.; PANDIAN, S. K. Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) of marine bacterial origin inhibits quorum sensing mediated biofilm formation in the uropathogen *Serratia marcescens*. **Biofouling**, v. 30, n. 9, p. 1111–1122, 2014.

PARADAS, W. C. et al. Induction of halogenated vesicle transport in cells of the red seaweed *Laurencia obtusa*. **Biofouling**, v. 26, n. 3, p. 277–286, 2010.

PARROT, D. et al. Mapping the Surface Microbiome and Metabolome of Brown Seaweed *Fucus vesiculosus* by Amplicon Sequencing, Integrated Metabolomics and Imaging Techniques. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.

PATARRA, R. F. et al. Concise review of the species *Pterocliadiella capillacea* (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 2, p. 787–808, 2020.

PATEL, P. et al. Specificity in the settlement - Modifying response of bacterial biofilms towards zoospores of the marine alga *Enteromorpha*. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 5, p. 338–349, 2003.

PAULO, B. S.; SIGRIST, R.; DE OLIVEIRA, L. G. Recent advances in combinatorial biosynthesis of polyketides: Perspectives and challenges. **Química Nova**, v. 42, n. 1, p. 71–83, 2019.

PELLETREAU, K. N.; TARGETT, N. M. New Perspectives for Addressing Patterns of Secondary Metabolites in Marine Macroalgae. In: **Algal Chemical Ecology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008. p. 121–146.

PENESYAN, A. et al. Antimicrobial activity observed among cultured marine epiphytic bacteria reflects their potential as a source of new drugs: Research article. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 69, n. 1, p. 113–124, 2009.

PENESYAN, A.; KJELLEBERG, S.; EGAN, S. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms. **Marine Drugs**, v. 8, n. 3, p. 438–459, 2010.

PEREIRA, R. C. et al. Ecological roles of natural products of the Brazilian red seaweed *Laurencia obtusa*. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 4, p. 665–672, 2003.

PEREIRA, R. DE S. Projeto e construção de um bioreator para síntese orgânica assimétrica catalisada por *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico de padaria). **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 551–554, 1997.

POORE, A. G. B. et al. Major consequences of minor damage: Impacts of small grazers on fast-growing kelps. **Oecologia**, v. 174, n. 3, p. 789–801, 2014.

PRADO, S. et al. Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of *Vibrio neptunius* as an oyster pathogen. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 67, n. 3, p. 209–215, 2005.

PRICHULA, J. et al. Genome Mining for Antimicrobial Compounds in Wild Marine Animals-Associated Enterococci. **marine drugs**, v. 19, n. 328, p. 1–21, 2021.

RADHOUANI, H.; IGREJAS, G.; GONC, A. Molecular characterization of antibiotic resistance in enterococci recovered from seagulls (*Larus cachinnans*) representing an environmental health. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, p. 2227–2233, 2011.

RAJASREE, V.; SATHEESH, S.; VINCENT, S. G. P. Antifouling activity of marine epibiotic bacterium from the seaweed *Sargassum wightii*. **Thalassas**, v. 28, n. 2, p. 37–44, 2012.

RAMANAN, R. et al. Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 1, p. 14–29, 2016.

RAO, D. et al. Low densities of epiphytic bacteria from the marine alga *Ulva australis* inhibit settlement of fouling organisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 24, p. 7844–7852, 2007.

RAO, D.; WEBB, J. S.; KJELLEBERG, S. Microbial Colonization and Competition on the Marine Alga *Ulva australis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n.

8, p. 5547–5555, 2006.

RASHEED, N.; MIRANDA, M. T. P.; THOMAS, A. A. Isolation and characterization of marine epiphytic bacillus against pseudomonas syringae. **International Journal of Scientific and Technology Research**, v. 9, n. 3, p. 3380–3384, 2020.

RATHER, M. A. et al. Microbial biofilm: A matter of grave concern for human health and food industry. **Journal of Basic Microbiology**, v. 61, n. 5, p. 380–395, 2021.

RAYNER, C.; MUNCKHOF, W. J. Rayner.2005.Staphaur-current-antibiotitreat.IMJ. **Internal medicine journal**, v. 35, n. 3, p. 1–16, 2005.

REVERTER, M. et al. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2020.

ROMERO, J.; GLORIA, C.; NAVARRETE, P. Antibiotics in Aquaculture – Use, Abuse and Alternatives. **Health and Environment in Aquaculture**, 2012.

ROMERO, M. et al. Quorum quenching in cultivable bacteria from dense marine coastal microbial communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 75, p. 205–217, 2011.

ROTTER, A. et al. The Essentials of Marine Biotechnology. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, n. March, p. 1–53, 2021.

S LAPORT, M.; GANDELMAN, J. F. S. Antagonistic Interactions among Bacteria Isolated from either the Same or from Different Sponges Native to the Brazilian Coast. **Journal of Marine Science: Research & Development**, v. 06, n. 02, 2016.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular biology and evolution**, v. 4, n. 4, p. 406–425, 1987.

SANTOS-GANDELMAN, J. F. et al. Characterization of Cultivable Bacteria from Brazilian Sponges. **Marine Biotechnology**, v. 15, n. 6, p. 668–676, 2013.

SAYEM, S. M. A. et al. Anti-biofilm activity of an exopolysaccharide from a sponge-associated strain of Bacillus licheniformis. **Microbial Cell Factories**, v. 10, p. 1–12, 2011.

SCHULTZ, M. P. et al. Economic impact of biofouling on a naval surface ship. **Biofouling**, v. 27, n. 1, p. 87–98, 2011.

SEKUROVA, O. N.; SCHNEIDER, O.; ZOTCHEV, S. B. Novel bioactive natural products from bacteria via bioprospecting, genome mining and metabolic engineering. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 5, p. 828–844, 2019.

SILVA-ACIARES, F.; RIQUELME, C. Inhibition of attachment of some fouling diatoms and settlement of Ulva lactuca zoospores by film-forming bacterium and their extracellular products isolated from biofouled substrata in northern Chile. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 1, 2008.

SIMIONI, C.; HAYASHI, L.; OLIVEIRA, M. C. Seaweed resources of Brazil: What has changed in 20 years? **Botanica Marina**, v. 62, n. 5, p. 433–441, 2019.

SINGH, R. P. et al. Isolation of seaweed-associated bacteria and their morphogenesis-inducing capability in axenic cultures of the green alga Ulva fasciata. **Aquatic Biology**, v. 12, n. 1, p. 13–21, 2011.

SINGH, R. P.; KUMARI, P.; REDDY, C. R. K. Antimicrobial compounds from seaweeds-associated bacteria and fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 4, p. 1571–1586, 2015.

SMITH, S.; TSAI, S. C. The type I fatty acid and polyketide synthases: A tale of two megasynthases. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 5, p. 1041–1072, 2007.

SPOERNER, M. et al. Growth and Thallus Morphogenesis of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) Depends on A Combination of Two Bacterial Species Excreting Regulatory Factors. **Journal of Phycology**, v. 48, n. 6, p. 1433–1447, 2012.

SRINIVASAN, R. et al. Marine Bacterial Secondary Metabolites : A Treasure House for Structurally Unique and Effective Antimicrobial Compounds. p. 1–36, 2021.

STACKEBRANDT, E.; EBERS, J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. **Microbiology Today**, v. 33, p. 152–155, 2006.

STEINBERG, P. D. et al. Interfaces between bacterial and eukaryotic “neuroecology”. **Integrative and Comparative Biology**, v. 51, n. 5, p. 794–806, 2011.

STINCONE, P.; BRANDELLI, A. Marine bacteria as source of antimicrobial compounds. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 3, p. 306–319, 2020.

STREJCEK, M. et al. Whole-cell MALDI-TOF MS versus 16S rRNA gene analysis for identification and dereplication of recurrent bacterial isolates. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUN, 2018.

SUDATTI, D. B. et al. 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.

SUDATTI, D. B. et al. New Ecological Role of Seaweed Secondary Metabolites as Autotoxic and Allelopathic. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, 2020.

SULLIVAN, T.; REGAN, F. The characterization, replication and testing of dermal denticles of *Scyliorhinus canicula* for physical mechanisms of biofouling prevention. **Bioinspiration and Biomimetics**, v. 6, n. 4, 2011.

SUSILOWATI, R.; SABDONO, A.; WIDOWATI, I. Isolation and Characterization of Bacteria Associated with Brown Algae *Sargassum* spp. from Panjang Island and their Antibacterial Activities. **Procedia Environmental Sciences**, v. 23, n. Ictcred 2014, p. 240–246, 2015.

SWIFT, S. et al. **Quorum Sensing as a Population-Density- Dependent Determinant of Bacterial Physiology**. [s.l: s.n.]. v. 45

TAN, Z. Q. et al. Co-Culture Systems for the Production of Secondary Metabolites: Current and Future Prospects. **The Open Biotechnology Journal**, v. 13, n. 1, p. 18–26, 2019.

TANG, G. L.; CHENG, Y. Q.; SHEN, B. Polyketide chain skipping mechanism in the biosynthesis of the hybrid nonribosomal peptide-polyketide antitumor antibiotic leinamycin in *Streptomyces atroolivaceus* S-140. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 387–393, 2006.

TAVECHIO WLG; GUIDELLI G; POTTZ L. Alternativas Para a Prevenção E O Controle De Patógenos Em Piscicultura Alternatives for the Prevention and Control of

- Pathogens in Fish Farming. **B. Inst. Pesca**, v. 25, n. 2, p. 335–341, 2009.
- TEASDALE, M. E. et al. Secondary metabolites produced by the marine bacterium *Halobacillus salinus* that inhibit quorum sensing-controlled phenotypes in gram-negative bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 3, p. 567–572, 2009.
- TEIXEIRA, P. et al. Environmental and Adaptive Changes Necessitate a Paradigm Shift for Indicators of Fecal Contamination. **Microbiology Spectrum**, v. 8, n. 2, p. 1–20, 2020.
- TERRA, C. S. S. **EFEITO DE MICRO-ORGANISMOS PATOGENICOS EM *Tubastraea coccinea* LESSON, 1829**. [s.l.] Universidade Federal Fluminense, 2016.
- THABARD, M. et al. *Sargassum polyceratum* (Phaeophyceae, Fucaceae) surface molecule activity towards fouling organisms and embryonic development of benthic species. **Botanica Marina**, v. 54, n. 2, p. 147–157, 2011.
- THILAKAN, B.; CHAKRABORTY, K.; CHAKRABORTY, R. D. Antimicrobial properties of cultivable bacteria associated with seaweeds in the Gulf of Mannar on the southeast coast of India. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 62, n. 8, p. 668–681, 2016.
- THIRUMURUGAN, D. et al. Isolation, structure elucidation and antibacterial activity of methyl-4,8-dimethylundecanate from the marine actinobacterium *Streptomyces albogriseolus* ECR64. **Microbial Pathogenesis**, v. 121, n. May, p. 166–172, 2018.
- THOMPSON, F.; THOMPSON, C. *Biotechnologia marinha*. p. 855, 2020.
- THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. CLUSTAL W (improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice). **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994.
- THOMS, C.; SCHUPP, P. Biotechnological Potential of Marine Sponges and their Associated Bacteria as Producers of New Pharmaceuticals (Part II). **Journal of International Biotechnology Law**, v. 2, n. 6, p. 257–264, 2005.
- TRZOSS, L. et al. Seriniquinone, a selective anticancer agent, induces cell death by autophagocytosis, targeting the cancer-protective protein dermcidin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 41, p. 14687–14692, 2014.
- TYC, O. et al. The Ecological Role of Volatile and Soluble Secondary Metabolites Produced by Soil Bacteria. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 4, p. 280–292, 2017.
- ULFAH, M.; KASANAHA, N.; WIJAYANTI, N. Antivibriosis and cytotoxicity of Actinobacteria associated with red seaweed *Gelidiella acerosa*. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 12, p. 6786–6794, 2021.
- VALENTIN, J. L. Analyse des paramètres hydrobiologiques dans la remontée de Cabo Frio (Brésil). **Marine Biology**, v. 82, n. 3, p. 259–276, 1984.
- VAN WEZEL, A. P.; VAN VLAARDINGEN, P. Environmental risk limits for antifouling substances. **Aquatic Toxicology**, v. 66, n. 4, p. 427–444, 2004.
- VEZZULLI, L.; COLWELL, R. R.; PRUZZO, C. Ocean Warming and Spread of Pathogenic Vibrios in the Aquatic Environment. **Microbial Ecology**, v. 65, n. 4, p. 817–

825, 2013.

VIJU, N. et al. Antibiofilm activities of extracellular polymeric substances produced by bacterial symbionts of seaweeds. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 43, n. 11, p. 2136–2146, 2014.

VIKESLAND, P. et al. Differential Drivers of Antimicrobial Resistance across the World. **Accounts of Chemical Research**, v. 52, n. 4, p. 916–924, 2019.

VILLARREAL-GÓMEZ, L. J. et al. Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface. **Revista de biología marina y oceanografía**, v. 45, n. 2, 2010.

VISZWAPRIYA, D. et al. In vitro and in vivo antibiofilm potential of 2,4-Di-tert-butylphenol from seaweed surface associated bacterium *Bacillus subtilis* against group A streptococcus. **Microbiological research**, v. 191, p. 19–31, out. 2016.

WAGENINGEN, V. et al. Sequencing and analysis of genes involved in the biosynthesis of a vancomycin group antibiotic. **Chemistry and Biology**, v. 5, p. 155–62, 1998.

WAHL, M. et al. The second skin: Ecological role of epibiotic biofilms on marine organisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. AUG, p. 1–21, 2012.

WALTERS, L. J.; HADFIELD, M. G.; SMITH, C. M. Waterborne chemical compounds in tropical macroalgae: positive and negative cues for larval settlement. **Marine Biology**, v. 126, n. 3, p. 383–393, 1996.

WANG, G. et al. Phylogenetic analysis of epiphytic marine bacteria on Hole-Rotten diseased sporophytes of *Laminaria japonica*. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 4, p. 403–409, 2008.

WANG, H. et al. Atlas of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic pathways reveals common occurrence of nonmodular enzymes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 25, p. 9259–9264, 2014.

WANG, K. L. et al. Mini-review: Antifouling natural products from marine microorganisms and their synthetic analogs. **Marine Drugs**, v. 15, n. 9, p. 1–21, 2017.

WANG, K. L. et al. Anti-Larval and Anti-Algal Natural Products from Marine Microorganisms as Sources of Anti-Biofilm Agents. **Marine Drugs**, v. 20, n. 2, 2022.

WANG, Q. et al. LuxO controls extracellular protease, haemolytic activities and siderophore production in fish pathogen *Vibrio alginolyticus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 5, p. 1525–1534, 2007.

WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 21, p. 319–346, 2005.

WEINBERGER, F.; FRIEDLANDER, M. Response of *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) to oligogalacturonates results in defense against agar-degrading epiphytes. **Journal of Phycology**, v. 36, n. 6, p. 1079–1086, 2000.

WEINBERGER, F.; HOPPE, H. G.; FRIEDLANDER, M. Bacterial induction and inhibition of a fast necrotic response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 3, p. 277–285, 1997.

- WEISBURG, W. G. et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 2, p. 697–703, 1991.
- WIESE, J. et al. Diversity of antibiotic-active bacteria associated with the brown alga laminaria saccharina from the baltic sea. **Marine Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 287–300, 2009.
- WIETZ, M. et al. Antibacterial compounds from marine Vibrionaceae isolated on a global expedition. **Marine Drugs**, v. 8, n. 12, p. 2946–2960, 2010.
- WILKINS, K.; SCHÖLLER, C. Volatile Organic Metabolites from Selected Streptomyces Strains. **Actinomycetologica**, v. 23, n. 2, p. 27–33, 2009.
- WINAND, R. et al. Targeting the 16s rRNA gene for bacterial identification in complex mixed samples: Comparative evaluation of second (illumina) and third (oxford nanopore technologies) generation sequencing technologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 1, p. 1–22, 2020.
- WORTHINGTON, R. J.; RICHARDS, J. J.; MELANDER, C. Small molecule control of bacterial biofilms. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 10, n. 37, p. 7457, 2012.
- YAMASAKI, T.; MIYAZAKI, Y.; KAMEI, Y. Isolation of bacteria that decompose major polysaccharides in the cell wall of the marine red alga Porphyra yezoensis and their application for protoplast production. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 789–794, 1998.
- YAN, L. et al. Biofilm-specific cross-species induction of antimicrobial compounds in bacilli. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 3719–3727, 2003.
- YANG, S. C. et al. Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. MAY, p. 1–10, 2014.
- YE, L. et al. Antibacterial activity and mutagenesis of sponge-associated Pseudomonas fluorescens H41. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 108, n. 1, p. 117–126, 2015.
- YEBRA, D. M. et al. Presence and effects of marine microbial biofilms on biocide-based antifouling paints. **Biofouling**, v. 22, n. 1–2, p. 33–41, 2006.
- YONESHIGUE-VALENTIN, Y. et al. **Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico, Ecologia e Conservação**. Arraial do Cabo: [s.n.].
- YONESHIGUE, Y. **Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Brésil)**. [s.l.] Université d’Aix-Marseille, 1985.
- ZHOU, X. Brief overview of world aquaculture production, an update with latest available 2018 global production data. **FAO Aquaculture Newsletter**, v. 61, p. 5–6, 2020.
- ZIESCHE, L. et al. Homoserine Lactones, Methyl Oligohydroxybutyrates, and Other Extracellular Metabolites of Macroalgae-Associated Bacteria of the Roseobacter Clade: Identification and Functions. **ChemBioChem**, v. 16, n. 14, p. 2094–2107, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que as bactérias associadas às macroalgas marinhas são capazes de inibir o crescimento de diversas bactérias patogênicas e incrustantes. Das 52 bactérias isoladas de quatro espécies de macroalgas marinhas, 58 % apresentaram ação antibiótica contra pelo menos uma das cepas indicadoras testadas. As bactérias mais ativas foram identificadas como bacilos Gram-negativos do gênero *Vibrio* e cocos Gram-positivos do gênero *Enterococcus*. Esse foi o primeiro trabalho que analisou a atividade antibiótica das bactérias associadas às macroalgas de Arraial do Cabo, e mostrou que, as espécies desse ambiente podem ser reservatórios de compostos bioativos com potencial biotecnológico.

Através da revisão sistemática produzida neste tema, verificamos que, apesar de existir um considerável número de estudos (n = 73) que abordem a atividade antibiótica das bactérias associadas às macroalgas, poucos são os trabalhos que aprofundam a pesquisa. De fato, observa-se uma escassez de artigos que identifiquem o composto bioativo produzido pelas bactérias. A maior parte dos artigos encontrados nesta revisão sistemática ficam apenas na parte de prospecção. Esses resultados evidenciam que esse campo de estudo precisa ser melhor explorado para que, no futuro, os compostos bioativos produzidos pelas bactérias possam ser utilizados como antibacterianos alternativos às substâncias convencionais, atuando por exemplo, no combate às bactérias patogênicas e incrustantes.

Por fim, através dessa tese foi possível identificar o potencial biotecnológico das bactérias isoladas de macroalgas de Arraial do Cabo, além de recomendar caminhos para pesquisas futuras e sugerir melhores práticas para avançar no campo.