



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

KIANI MELLO SANT' ANNA

TAXONOMIA, ECOLOGIA E QUÍMICA DA ESPONJA *Darwinella* sp.
(Porifera: Dendroceratida) de ARRAIAL DO CABO, RJ.

ARRAIAL DO CABO

2023

KIANI MELLO SANT' ANNA

**TAXONOMIA, ECOLOGIA E QUÍMICA DA ESPONJA *Darwinella* sp.
(Porifera: Dendroceratida) de ARRAIAL DO CABO, RJ.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)/Universidade Federal Fluminense (UFF) como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia Marinha.

Orientador:

Dr. Ricardo Coutinho

Coorientadores:

Dra. Daniela Batista

Dra. Angélica Soares

ARRAIAL DO CABO

2023

KIANI MELLO SANT' ANNA

**TAXONOMIA, ECOLOGIA E QUÍMICA DA ESPONJA *Darwinella* sp.
(Porifera: Dendroceratida) de ARRAIAL DO CABO, RJ.**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) /Universidade Federal Fluminense (UFF) como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia Marinha.

COMISSÃO JULGADORA:

Dra. Ricardo Coutinho

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

Dr. Eduardo Leal Esteves

Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ)

Dr. Renato Crespo Pereira

Universidade Federal Fluminense (UFF)

Dra. Luciana Altvater

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)

Dr. Frederico Tapajos de Souza

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)

Dra. Louisi Souza de Oliveira

Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)

Dra. Layla Poubel Tunala

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

FICHA CATALOGRÁFICA

S232 Sant'Anna, Kiani Mello

Taxonomia, ecologia e química da esponja *Darwinella sp.* (Porifera: Dendroceratida) de Arraial do Cabo, RJ./ Kiani Mello Sant'Anna. – Arraial do Cabo, 2023.

146 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Ricardo Coutinho.

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, 2023.

1. Taxonomia 2. Ecologia. 3. Biotecnologia Marinha
I. Coutinho, Ricardo. II. Título.

CDD:660.6

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer a Deus por me manter de pé e me dar estruturas ao longo dessa trajetória. Estar sã foi um grande desafio!

A minha amada e querida filha Maitê, por ser o maior e melhor presente que recebi na vida, durante o meu doutorado. Obrigada por me ensinar o verdadeiro significado do amor. Você é, literalmente, meu coração batendo fora do peito!!

Ao meu querido marido pela paciência, compreensão, carinho e cuidado. Obrigada por acreditar em mim, você foi meu porto seguro nessa jornada.

Ao meu orientador, Ricardo Coutinho, pelo apoio, incentivo, paciência, carinho e ensinamentos. Obrigada por acreditar em mim!!

A minha coorientadora, Daniela Batista, pelo incentivo, ajuda e paciência. Obrigada por me acolher em sua casa muitas vezes para finalização de cada etapa desta tese.

A minha coorientadora, Angélica Soares, pela oportunidade de conhecer o mundo da química e por me permitir fazer parte do grupo GPNOA. Obrigada por todo o suporte, carinho e palavras de conforto.

Ao professor, Guilherme Muricy, obrigada pelo auxílio e apoio na identificação morfológica desse animal incrível.

As minhas queridas amigas Ellen e Juliana pelo suporte técnico, apoio na bancada, tratamento dos dados e análise estatística. Obrigada também pelas palavras de carinho, paciência e incentivo. Eu não chegaria até aqui sem vocês!!

Aos parceiros de mergulho que me apoiaram nessa jornada: Julia, Géssica Nathy, Priscila, Layla, Carol Guerra, Zé Bola, Dani, Janaína.

As queridas Glauce e Beatriz por todo suporte burocrático, carinho e apoio.

A toda a família BIOTECMAR pelos momentos de descontração totalmente necessários. Foram muitas conversas a base de café, suor e lágrimas!!

A querida Nathália Nocchi pelo apoio nas análises estatísticas e químicas.

Aos queridos professores da banca de qualificação, Nathália Nocchi, José Eduardo, Fernanda Azevedo e Luciana Altvater, pelas excelentes contribuições que melhoraram a qualidade do trabalho.

Agradeço também à CAPES pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

Obrigada a todos que de algum modo contribuíram para que esse projeto desse certo.

Por fim, agradeço a banca de defesa que se dispôs a avaliar esta pesquisa e contribuir para a finalização desta tese.

IN MEMORIAN

Dedico esta tese de doutorado ao meu querido tio Humberto Mauro, pedaço do meu coração, pai postiço, meu grande incentivador, querido conselheiro, ótimo ouvinte e o melhor contador de piadas. Te amo com todo meu coração.

RESUMO

O gênero *Darwinella* era raro na região de Arraial do Cabo (RJ) no final da década de 1980, porém, atualmente é comumente encontrado crescendo sobre os costões rochosos. Contudo, ainda existem dúvidas quanto à identificação taxonômica da espécie registrada na região. Ainda, os estudos realizados com *Darwinella* na região mostraram uma grande diversidade de metabólitos secundários, que influencia diretamente na estruturação espacial e trófica das comunidades bentônicas. Desta maneira, o objetivo do presente trabalho foi aprofundar os conhecimentos sobre os aspectos taxonômicos, ecológicos e químicos da esponja *Darwinella* sp. que ocorre na região de Arraial do Cabo. O primeiro capítulo foi intitulado “Taxonomia da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ”; O capítulo 2 foi intitulado “Efeito da temperatura no crescimento da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) de Arraial do Cabo, RJ, Brasil”. E o capítulo 3 foi intitulado “Estudo da variação do perfil químico da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) frente a relações ecológicas de competições interespecíficas na região de Arraial do Cabo”. No primeiro capítulo, foram comparadas as estruturas morfológicas presentes na esponja com outras espécies do mesmo gênero descritas na literatura. Os resultados mostraram que a esponja presente na região é distinta das demais espécies do gênero. No entanto, devido a plasticidade morfológica desses organismos e a escassez de caracteres morfológicos deste gênero, para confirmação de uma possível nova espécie se faz necessário que ferramentas adicionais de identificação, como por exemplo, a taxonomia molecular sejam utilizadas. No capítulo 2, foi investigado também o possível efeito da variação da temperatura da água no crescimento da esponja em dois pontos distintos da Baía do Arraial do Cabo. Não foi observada diferença significativa entre o crescimento e a temperatura ($p > 0,05$), sugerindo que outros fatores não abordados no presente estudo explicariam essas diferenças. No capítulo 3, foi avaliado também o perfil químico da esponja quando em interação direta (fronteira) e indireta (parte interna) com três potenciais competidores, coral invasor *Tubastraea coccinea*, ao antozoário *Palythoa caribaeorum* e a algas turf. Os resultados mostram a existência de uma variabilidade química disposta espacialmente em diferentes partes do tecido de *Darwinella* sp., e também que o perfil químico da esponja é capaz de variar conforme a identidade dos competidores que compartilham o substrato consolidado com a esponja

Palavra-chave: Taxonomia, esponjas, crescimento, temperatura e metabólitos secundários.

ABSTRACT

. The genus *Darwinella* was rare in the region of Arraial do Cabo (RJ) in the late 1980s, but is now commonly found growing on rocky shores. However, there are still doubts about the taxonomic identification of the species recorded in the region. Furthermore, the studies carried out with *Darwinella* in the region have shown a great diversity of secondary metabolites, which directly influences the spatial and trophic structure of the benthic communities. Thus, the objective of the present work was to deepen the knowledge about taxonomic, ecological and chemical aspects of the sponge *Darwinella* sp. that occurs in the Arraial do Cabo region. The first chapter was entitled "Taxonomy of the sponge *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) from the Marine Extractive Reserve of Arraial do Cabo, RJ"; Chapter 2 was entitled "Effect of temperature on the growth of the sponge *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) from Arraial do Cabo, RJ, Brazil". And chapter 3 was entitled "Study of the variation of the chemical profile of the sponge *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) facing ecological relationships of interspecific competitions in the region of Arraial do Cabo". In the first chapter, the morphological structures present in the sponge were compared to other species of the same genus described in the literature. The results showed that the sponge present in the region is distinct from other species of the genus. However, due to the morphological plasticity of these organisms and the scarcity of morphological characters of this genus, for confirmation of a possible new species it is necessary that additional identification tools, such as molecular taxonomy, be used. In chapter 2, we also investigated the possible effect of water temperature variation on sponge growth at two different points in Arraial do Cabo Bay. No significant difference was observed between growth and temperature ($p > 0.05$), suggesting that other factors not addressed in this study would explain these differences. In chapter 3, the chemical profile of the sponge was also evaluated when in direct (boundary) and indirect (internal part) interaction with three potential competitors, the invading coral *Tubastraea coccinea*, the antozoan *Palythoa caribaeorum*, and the turf algae. The results show the existence of spatially arranged chemical variability in different parts of the *Darwinella* sp. tissue, and also that the chemical profile of the sponge is able to vary according to the identity of the competitors sharing the consolidated substrate with the sponge

Key-words: Taxonomy, sponges, growth, temperature, secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 Mapa de localização do município de Arraial do Cabo e ponto de coleta dos espécimes de *Darwinella* sp. na Baía do Arraial do Cabo, Ilha dos Porcos (em vermelho).....31.

Figura 1.2 Em (A) espécime de *Darwinella* sp. coletado na Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo, RJ em vida. Em (B) espécime pós fixada. Em (C, D, E e F) caracteres morfológicos internos analisados, espiculoides fibrosos e fibras de esponjina.....35.

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 Mapa de localização do município e dos pontos estudados na Baía do Arraial do Cabo (42°00'W-22°44'S), sendo: 1-Ilha de Cabo Frio, 2- Saco do Gato, 3- Praia dos Anjos, 4- Porto, 5- Fortaleza, 6- Forno, 7- Ilha dos Porcos, 8- Saco dos Cardeiros, 9- Saco do Anequim, 10 –Pedra Vermelha, 11- Maramutá. Os pontos de acompanhamento do crescimento da esponja *Darwinella* sp. na Ilha dos Porcos (IP; área norte) e Ilha do Cabo Frio (IF; área sul) estão destacados com círculo preto.....65.

Figura 2.2 Em (A) *Darwinella* sp. antes da raspagem no substrato consolidado (fevereiro de 2019); em (B) espécime da esponja após a raspagem. Em (C) *Darwinella* sp. no início do monitoramento do crescimento em abril de 2019, e em (D) espécime da esponja no final do monitoramento em junho de 2020 na Ilha dos Porcos. Em (E) *Darwinella* sp. no início do monitoramento do crescimento em abril de 2019, e em (F) espécime da esponja no final do monitoramento em junho de 2020 na Ilha de Cabo Frio.....67.

Figura 2.3 Exemplo de uma imagem usada para estimativa da área do espécime da esponja *Darwinella* sp., no programa *Image J*.....69.

Figura 2.4 Temperatura média, máxima e mínima (°C) registrada para Ilha dos Porcos e Ilha de Cabo Frio, entre abril de 2019 e maio de 2020. Barra= Desvio padrão. Linhas pontilhadas em azul com marcador em círculo representa as temperaturas mínimas na Ilha de Cabo Frio, e com marcador quadrado representa a temperatura mínima na Ilha dos Porcos. As linhas contínuas em rosa com marcador em círculo representam a temperatura máxima na Ilha de Cabo Frio, e com marcador quadrado representa a temperatura máxima na Ilha dos Porcos. As linhas contínuas em preto e cinza representam a média mensal de temperatura na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos, respectivamente.....71.

Figura 2.5. Crescimento (%) da esponja *Darwinella* sp. na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo, RJ, ao longo de 14 meses de estudo (de abril de 2019 a maio de 2020). As medições foram feitas mensalmente. Barra= Desvio padrão.....73.

Figura 2.6. Crescimento de *Darwinella* sp. em relação a temperatura média mensal, máxima e mínima (°C) na Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo. O eixo y à esquerda representa os valores da temperatura (média, mínima e máxima), e à direita do eixo y, a proporção de crescimento da espécie ao longo do tempo. As linhas pontilhadas representam os valores de temperatura máxima e mínima e a linha contínua refere-se a média mensal de temperatura no ponto amostrado. O eixo x representa às taxas de crescimento da esponja entre abril de 2019 e junho de 2020.....75.

Figura 2.7 Crescimento de *Darwinella* sp. em relação a temperatura média mensal, máxima e mínima (°C) na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo. O eixo y à esquerda representa os valores da temperatura (média, mínima e máxima), e à direita do eixo y, a proporção de crescimento da espécie ao longo do tempo. As linhas pontilhadas representam os valores de temperatura máxima e mínima e a linha contínua refere-se a média mensal de temperatura no ponto amostrado. O eixo x representa às taxas de crescimento da esponja entre abril de 2019 e junho de 2020.....76.

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 Mapa de localização do município de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil e ponto de coleta dos espécimes de *Darwinella* sp. na Baía do Arraial do Cabo, Ilha dos Porcos (em vermelho).....100.

Figura 3.2 Interação da esponja *Darwinella* sp. com seus respectivos competidores. Em (A) interação entre *Darwinella* sp. e *Tubastraea coccinea*, em (B) interação entre *Darwinella* sp. e *Palythoa caribaeorum* e em (C) interação entre *Darwinella* sp. e algas *turf*.....100.

Figura 3.3 Desenho esquemático representando a metodologia utilizada para coleta do tecido da esponja *Darwinella* sp. realizada na Ilha dos Porcos. Em (A) coleta de tecido na área fronteira de interação entre *Darwinella* sp. e *Palythoa caribaeorum* (N=6) e parte interna (N=6); em (B) coleta de tecido na área fronteira de interação entre *Darwinella* sp. e algas *turf* fronteira (N=6) e parte interna (N=6), em (C) Interação entre *Darwinella* sp. e *Tubastraea coccinea* fronteira (N=6) e parte interna (N=6) e em (D) *Darwinella* sp. como controle (n=6).....101.

Figura 3.4 Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Em (A) extratos referentes as amostras do controle (CT2), em (B) *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* fronteira (PF2), em (C) *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* parte interna (PI2), em (D) *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea* fronteira (TF2), em (E) *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea* parte interna (TI2), em (F) *Darwinella* sp. com algas *turf* fronteira (AF2) e em (G) *Darwinella* sp. com algas *turf* parte interna (AI2). Os números *indicam* as substâncias mais abundantes (>1% de área relativa).....110.

Figura 3.5 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. (controles e tratamentos) obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=45.9% e CP2=14.0%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), os símbolos em azul representam o tratamento parte interna (I) e os símbolos em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; TF: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea*; TI: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* parte interna; PF: *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* fronteira; PI: *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* parte interna; AF: *Darwinella* com alga *turf* fronteira; AI: *Darwinella* com alga *turf* parte interna.....112.

Figura 3.6 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=56.6% e CP2=17.2%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), em azul representam o tratamento parte interna (I) e em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; PF *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* fronteira; PI *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* parte interna.....114.

Figura 3.7 Scores da CP2 com os diferentes tratamentos. Legendas: CT: controle; PF *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* fronteira; PI *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* parte interna. Letras iguais

foram usadas para identificar os grupos que não diferiram significativamente ($p \geq 0.05$).....114.

Figura 3.8 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=50.9% e CP2=19.6%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), em azul representam o tratamento parte interna (I) e em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; TF: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea*; TI: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* parte interna.....116.

Figura 3.9 Scores da PC2 com os diferentes tratamentos. Legendas: CT: controle; TF: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea*; TI: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* parte interna. Letras iguais foram usadas para identificar os grupos que não diferiram significativamente ($p \geq 0.05$)117.

Figura 3.10 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=48.4% e CP2=16.1%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), em azul representam o tratamento parte interna (I) e em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; AF: *Darwinella* com algas *turf* fronteira; AI: *Darwinella* alga *turf* parte interna.....119

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 Descrição morfológica dos caracteres externos dos seis espécimes de *Darwinella* sp.: área total (cm²), espessura (mm), diâmetro dos ósculos (mm) e distância entre cônulos (mm)36.

Tabela 1.2 Descrição morfológica dos caracteres internos dos seis espécimes de *Darwinella* sp. coletados: comprimento e espessura (mínimo e máximo) das fibras de esponjina (mm), e espiculóides (µm)36

.....
Tabela 1.3 Caracteres taxonômicos descritos para as espécies do gênero *Darwinella* (*Darwinella gardineri*, *Darwinella oxeata*, *Darwinella pronzatoï*) que mais se assemelham ao morfotipo observado no atual estudo.....37.

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 Temperaturas (°C) máximas (máx.) e mínimas (min.) registradas na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos no período de abril de 2019 a maio de 2020, medida de hora em hora, em cada estação estudada. Frequência de ocorrência da temperatura menor que 18°C, caracterizando a influência da ressurgência (ACAS) neste período.....71.

Tabela 2.2 ANOVA para medidas repetidas do crescimento de *Darwinella* sp. na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos, do período de abril de 2019 a maio de 2020.....73.

Tabela 2.3. Ocorrência (X) e Ausência (0) de *Darwinella* sp. e o número de indivíduos da esponja observados ao longo de cada mergulho realizado nos 11 pontos da Baía Arraial do Cabo, entre novembro de 2021 e fevereiro de 2022.....77.

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1. Substâncias dos extratos da esponja *Darwinella* sp. detectadas pelo CG-EM com área relativa ≥1%. Compostos com índice de similaridade inferior a 80% pela biblioteca NIST estão representados pelas letras NI (não identificado). Legendas: Controle (CT) e *Darwinella* sp. com *T. coccinea* fronteira (TF) e parte interna (TI).106.

Tabela 3.2 Substâncias dos extratos da esponja *Darwinella* sp., detectadas pelo CG-EM com área relativa ≥1%. Substâncias com índice de similaridade inferior a 80% pela biblioteca NIST estão representados pelas letras NI (não identificado). Legendas: *Darwinella* sp. com *P. Caribaeorum* fronteira (PF) e parte interna (PI) e *Darwinella* sp. com algas *turf* fronteira (AF) e parte interna (AI).....107.

Tabela 3.3 ANOVA para comparação entre os tratamentos com *Darwinella* sp. e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP)112.

Tabela 3.4 ANOVA para comparação entre os tratamentos de *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).....115.

Tabela 3.5 ANOVA para comparação entre os tratamentos de *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea* e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).....117.

Tabela 3.6 ANOVA para comparação entre os tratamentos de *Darwinella* sp. com algas *turf* e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).....119.

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
I. INTRODUÇÃO GERAL.....	14
II.CONTEXTUALIZAÇÃO PARA A TESE.....	17
III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
IV. HIPÓTESES.....	18
V. REFERÊNCIAS.....	19

CAPÍTULO 1. Taxonomia da esponja *Darwinella* sp. (PORIFERA: DENDROCERATIDA) na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo - RJ

Resumo.....	24
Abstract.....	25
1.1 INTRODUÇÃO.....	26
1.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
1.2.1 Coleta dos espécimes de <i>Darwinella</i> sp.....	31
1.2.2 Análise de dados morfológicos (externos e internos)	32
1.3.RESULTADOS.....	33
1.4. CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS.....	37
1.5. CONCLUSÃO.....	42
1.6 ANEXOS.....	43
1.7 REFERÊNCIAS.....	48

CAPÍTULO 2. Efeito da temperatura no crescimento da esponja *Darwinella* sp. (Porifera:Dendroceratida) em Arraial do Cabo, RJ, Brasil

Resumo.....	57
Abstract.....	58
2.1 INTRODUÇÃO.....	59
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
2.2.1 Área de Estudo	63
2.2.2 Pontos de amostragem	64
2.2.3 Avaliação do crescimento da esponja da esponja <i>Darwinella</i> sp.	65
2.2.4 Ocorrência de <i>Darwinella</i> sp. na Baía do Arraial do Cabo	68
2.2.5 Taxa de Crescimento.....	68
2.3. ANÁLISES DOS DADOS.....	69
2.3.1 Análise de variância (ANOVA)	69
2.3.2 Teste <i>T Student</i>	69
2.3.3 Correlação de <i>Pearson</i>	69
2.4. RESULTADOS.....	70
2.4.1 Temperatura	70
2.4.2 Taxa de crescimento de <i>Darwinella</i> sp.	72
2.4.3 Variação do crescimento da esponja <i>Darwinella</i> sp. em função da temperatura na Ilha dos Porcos.....	74
2.4.4 Variação do crescimento da esponja <i>Darwinella</i> sp. em função da temperatura na Ilha de Cabo Frio.	75
2.4.5 Ocorrência de <i>Darwinella</i> sp.	77
2.5 DISCUSSÃO.....	77
2.6 CONCLUSÃO.....	83
2.7 REFERÊNCIAS.....	84

CAPÍTULO 3. Estudo da variação do perfil químico da esponja *Darwinella* sp. (PORIFERA: DENDROCERATIDA) frente a relações ecológicas de competições interespecíficas.

Resumo.....	94
Abstract.....	95
3.1 INTRODUÇÃO.....	96
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	99
3.2.1 Coleta da esponja <i>Darwinella</i> sp.	99
3.2.2 Extração das substâncias orgânicas	99
3.2.3 Análise dos perfis químicos.....	102
3.2.3.1 Preparação	102
3.2.3.2 Sistema de Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)	102
3.2.3.3 Perfil químico	103
3.3 ANÁLISE DOS DADOS	103
3.3.1 Análise de componente principal (ACP)	103
3.3.2 Análise estatística	104
3.4 RESULTADOS	104
3.4.1 Estudo dos perfis químicos dos extratos brutos de <i>Darwinella</i> sp.	104
3.4.2 Análise de componente principal (ACP)	111
3.4.2.1 Interação de <i>Darwinella</i> sp. com os três potenciais competidores.....	111
3.4.2.2 Interação de <i>Darwinella</i> sp. com <i>Palythoa caribaeorum</i>	113
3.4.2.3 Interação de <i>Darwinella</i> sp. com <i>Tubastraea coccinea</i>	115
3.4.2.4 Interação de <i>Darwinella</i> sp. com algas calcárias	117
3.5 DISCUSSÃO.....	119
3.6 CONCLUSÃO.....	127
3.7 ANEXOS.....	128
3.8 REFERÊNCIAS	136
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	146

I. INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente, são descritas aproximadamente 9.550 espécies válidas para o Filo Porifera (de Voogd *et al.* 2023). Apesar do número de espécies identificadas e catalogadas parecerem alto, cientistas calculam que ainda existam mais de 4000 espécies para serem descritas / descobertas ao redor do globo (Van Soest *et al.* 2019). Todos os anos, o número de espécies válidas é crescente, por exemplo, Van Soest *et al.* (2016) contabilizou a existência de 8.700 espécies viventes e, após cinco anos, este número já se encontrava com quase 700 táxons há mais descritos (Van Soest *et al.* 2019, 2021). No Brasil, existem 590 espécies descritas, no entanto, estima-se que há cerca de 400 espécies ainda não catalogadas (Muricy 2019).

Embora a identificação de esponjas tenha crescido nos últimos anos, o *status* taxonômico das espécies pertencentes ao Filo Porifera ainda é um grande desafio para ciência. As esponjas são organismos dotados de uma organização corporal simples, e dispõe de poucos caracteres para sua identificação. Historicamente, a taxonomia deste grupo é baseada em caracteres morfológicos e na organização do esqueleto (espículas e fibras de espongina). Contudo, há espécies que não apresentam esqueleto ou apresentam pouca variação do esqueleto (e.g. *Callyspongia*), dificultando ainda mais as identificações até a menor unidade de classificação taxonômica. Para sanar tal limitação, cientistas recorrem a fontes adicionais para identificação de espécies, como análise molecular (barcoding de DNA), análise bioquímica (organismos associados) entre outros (Erpenbeck *et al.* 2012; Morrow e Cárdenas, 2015).

Ecologicamente, todo organismo presente no substrato consolidado é relevante para o bom funcionamento e equilíbrio do ecossistema marinho como um todo (Brusca *et al.* 2018). Contudo, as esponjas se destacam dos demais invertebrados pois exercem um papel fundamental na manutenção desses ecossistemas (Bell 2008; Wulff 2020). Por exemplo, esponjas são organismos que promovem a manutenção das comunidades bentônicas, pois atuam no reforço da produtividade primária em ambientes oligotróficos, através dos simbiontes que participam da ciclagem do nitrogênio (van Soest *et al.* 2012; McMurray *et al.* 2017). Fornecem abrigo, alimentação e locais de reprodução para diversos grupos de invertebrados e peixes (Ávila *et al.* 2007; van Soest *et al.* 2012; Wulff 2001; Webster e Thomas 2016, Pita *et al.* 2018; Santos 2019). São boas indicadoras ambientais à sua sensibilidade a qualidade de água, sendo utilizadas em biomonitoramentos (De Goeij *et al.* 2009).

De acordo com Lavrado e Ignacio (2006), grande parte da biomassa das comunidades bentônicas são constituídas por esponjas, e o crescimento e distribuição desses organismos são influenciados por um conjunto de fatores bióticos e abióticos (Fortunato 2015; Wulff 2020). Já foi verificado que alterações nas condições ambientais, tal como, da temperatura da água do mar (fator abiótico), por exemplo, alteram as taxas de crescimento das esponjas (De Caralt 2008). Também já foi observado que a remoção de predadores altera a distribuição das esponjas no mar do Caribe (Loh e Pawlik 2014), assim como as interações competitivas pelo espaço no substrato consolidado (fatores bióticos) (Sandin e McNamara 2012; Silva *et al.* 2022). Esses fatores atuam geralmente de forma sinérgica e, geralmente, podem causar efeito letal em muitas espécies que se encontram em ambientes que apresentam alterações nas características físico-

químicas ou biológicas, favorecendo o estabelecimento e\ou crescimento de poucas espécies (Fortunato 2015).

As esponjas estão entre os invertebrados marinhos que possuem maior número e diversidade de metabólitos secundários e, atualmente, já foram isoladas mais de 9000 substâncias químicas com diferentes aplicabilidades na indústria farmacêutica (atividades antifúngica, bactericida, anticâncer, anti-inflamatória) (Mehub *et al.* 2014; Wilson *et al.* 2023). Dentre as substâncias identificadas estão alcalóides, terpenóides, bases nitrogenadas, compostos indólicos, macrolídeos, peptídeos e diversas outras classes de substâncias, todas com alto valor terapêutico e grande potencial para o desenvolvimento de novas drogas medicinais (Muricy *et al.* 2008, Miller *et al.* 2010; Wilson *et al.* 2023).

Além da sua importância ecológica, estudos revelam o seu alto potencial econômico, que ainda é pouco explorado (Ramirez *et al.* 2017). O uso das esponjas como recurso depende, entretanto, de boas identificações taxonômicas das espécies, bem como de uma melhor compreensão sobre os fatores ambientais que exercem influência sobre a distribuição desses organismos no ambiente (Muricy 1999; Bell 2008; Wulff 2012). Infelizmente, as esponjas são frequentemente ignoradas dentro de investigações ecológicas devido aos problemas associados a dificuldade de identificação das espécies (Bell; Smith, 2004). Assim, o desenvolvimento de estudos que busquem o esclarecimento sobre as identificações taxonômicas de espécies de esponjas, juntamente com os aspectos ecológicos, é fundamental para melhor compreensão, caracterização, monitoramento e conservação dos ecossistemas marinhos.

II. CONTEXTUALIZAÇÃO PARA A TESE

O município de Arraial do Cabo está localizado no estado do Rio de Janeiro e é considerada uma região particularmente interessante para estudos ecológicos por apresentar características de um sistema tropical e subtropical, com variações sazonais de temperatura (Calado *et al.* 2020). Atualmente, existem identificadas mais de 70 espécies de esponjas na Baía do Arraial do Cabo (Batista *et al.* 2020) e *Darwinella* sp. se destaca dentre a fauna esponjosa que ocorre nos costões rochosos. Esta espécie era rara na região no final da década de 1980, porém, atualmente, é comumente encontrada crescendo sobre os costões rochosos (Muricy 1991). Embora trata-se de uma espécie amplamente distribuídas para região de Arraial do Cabo (comunicação pessoal), ainda há dúvidas a respeito da sua identificação taxonômica. Inicialmente *Darwinella* sp. foi identificada como *Darwinella gardineri* (Muricy *et al.* 1991), posteriormente, entretanto, estudos revelaram a semelhança química entre esta espécie e *Darwinella oxeata* (Ramirez *et al.* 2017).

Desta maneira, tendo em vista a problemática envolvendo a identificação de *Darwinella* sp. e sua expansão nos costões rochosos da Baía do Arraial do Cabo nos últimos anos, o objetivo geral do presente estudo foi aprofundar os conhecimentos sobre os aspectos taxonômicos, ecológicos e químicos da esponja e, para tal, este trabalho foi dividido em três capítulos. O primeiro capítulo foi intitulado “Taxonomia da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ”; O capítulo 2 foi intitulado “Efeito da temperatura no crescimento da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) de Arraial do Cabo, RJ, Brasil”. E o capítulo 3 foi intitulado “Estudo da variação do perfil químico da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) frente a relações ecológicas de competições interespecíficas na região de Arraial do Cabo”.

III. OBJETIVOS

Objetivos específicos

- 1- Descrever e definir o status taxonômico dos morfotipos de *Darwinella* sp. de presentes nos costões rochosos de Arraial do Cabo (Capítulo 1);

- 2- Comparar a taxa de crescimento de *Darwinella* sp. em dois pontos com influência distinta da Ressurgência (Capítulo 2);
- 3 - Avaliar a atual ocorrência da esponja *Darwinella* sp. nos 11 pontos amostrados há 30 anos atrás na Baía do Arraial do Cabo (Capítulo 2);
- 4- Analisar e comparar o perfil químico intraespecífico de extratos brutos da esponja *Darwinella* quando em interação com três potenciais competidores (*Tubastraea coccinea*, *Palythoa caribaeorum* e algas), através da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) (Capítulo 3).

IV HIPÓTESES

H₁: Os caracteres morfológicos dos morfotipos da esponja *Darwinella* sp. de Arraial do Cabo diferem dos caracteres descritos para as demais espécies do gênero *Darwinella*.

H₁: A taxa de crescimento da esponja *Darwinella* sp. varia nos dois pontos que estão sob influência direta (Ilha de Cabo Frio) e indireta (Ilha dos Porcos) do fenômeno da ressurgência.

H₁: O perfil químico do extrato bruto da esponja *Darwinella* sp. varia entre as áreas do tecido que estão em contato direto (fronteira) e indireto (parte interna) com três potenciais competidores.

V. REFERÊNCIAS

AVILA, E.; CARBALLO, J.L. BARRAZA, J.A.C. Symbiotic relationships between sponges and other organisms from the Sea of Cortes (Mexican Pacific coast): same problems, same solutions. **Porifera Research: Biodiversity, Innovation and Sustainability**, 2007.

BATISTA, D.; GONÇALVES, J.E.A.; MESSANO, H.F.; ALTVATER, L.; CANDELLA, R.; CALIL, L.M.E.; DE MESSANO, L.V.R.; APOLINÁRIO, M.; COUTINHO, R. 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**, 2017.

BATISTA, D.; MORAES, F.; PADUA, A.; KLAUTAU, M.; MURICY, GUILHERME. Capítulo 5. Esponjas marinhas (Porifera). In: Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico, Ecologia e Conservação. Arraial do Cabo: **Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira**, p. 126-153, 2020.

BELL, J.J. The functional roles of marine sponges. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.79, n. 3, p. 341-353, 2008.

BRUSCA, R.C.; MOORE, W., SHUSTER, S.M. Invertebrados. 3a edição. **Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro**, p. 1010, 2018.

CALADO, L.; SOUTELINO R.G.; CANABARRO, D.; GONZALEZ RODRIGUEZ, E. Capítulo 1. 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.: 16-47.

DE VOOGD, N.J.; ALVAREZ, B.; BOURY-ESNAULT, N.; CARBALLO, J.L.; CÁRDENAS, P.; DÍAZ, M.-C.; DOHRMANN, M.; DOWNEY, R.; GOODWIN, C.; HAJDU, E.; HOOPER, J.N.A.; KELLY, M.; KLAUTAU, M.; LIM, S.C.; MANCONI, R.; MORROW, C.; PINHEIRO, U.; PISERA, A.B.; RÍOS, P.; RÜTZLER, K.; SCHÖNBERG, C.; VACELET, J.; VAN SOEST, R.W.M.; XAVIER, J. (2023). World Porifera Database. Accessed at <https://www.marinespecies.org/porifera> on 2023-04-09. doi:10.14284/359.

FORTUNATO, H.F. Biodiversidade e dinâmica estrutural de assembleias de esponjas marinhas (Filo Porifera) da ilha grande cercanias, Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 2015.

GOEIJ, J.M.; OEVELEN, D.V.; VERMEIJ, M.J.A.; OSINGA, R.; MIDDELBURG, J.J.; GOEIJ, F.P.M.; ADMIRAAL, W. Surviving in a marine desert: the sponge loop retains resources within coral reefs. **Science**, v. 342, p. 108-110, 2013.

LOH, T.L.; PAWLIK, J.R. Bitten down to size: fish predation determines growth form of the Caribbean coral reef sponge *Mycale laevis*. **Journal of Marine Biology**, n. 374, p. 45–50, 2009.

LOH, T.L.; PAWLIK, J.R. Chemical defenses and resource trade-offs structure sponge communities on Caribbean coral reefs. **Proc Natl Acad Sci**, v.111, p. 4151–4156, 2014.

MCMURRAY, S.E; PAWLIK, J.R.; FINELLI, C.M. Demography alters carbon flux for a dominant benthic suspension feeder. **Functional Ecology**, v. 31, p. 2188–2198, 2017.

MORROW, C.; CÁRDENAS, P. Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). **Frontiers in Zoology**, v.12, p. 7, 2015.

MURICY, G. Sponges as pollution-biomonitoring at Arraial do Cabo, Southeast Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, 49, 347–354, 1989

MURICY, G.; HAJDU, E. Porifera Brasilis: Guia de identificação das esponjas marinhas mais comuns do sudeste do Brasil. **Museu Nacional, Rio de Janeiro**. Série de livros 17, p. 104, 2006.

MURICY, G.; HAJDU, E.; CUSTÓDIO, M.R.; KLAUTAU, M.; RUSSO, C.; PEIXINHO, S. Sponge distribution at Arraial do Cabo, SE Brazil. In: MAGOON, O.T.; CONVERSE, H.; TIPPIE, V.; TOBIE, L.T.; CLARK, D. (Eds). **Proc. VIIIth Symp Coast Ocean Manag**, Long Beach. ASCE Publ. p. 1183-1195, 1991.

MURICY, G.; LOPES, D.A.; HAJDU, E; CARVALHO, M.S.; MORAES, F.C.; KLAUTAU, M.; MENEGOLA, C.; PINHEIRO, U. Catalogue of Brazilian Porifera. **Museu Nacional, Série Livros**, 300 pp. 2011.

MURICY, G.; SILVA, O. C. Esponjas marinhas do estado do Rio de Janeiro: Um recurso renovável inexplorado. In: SILVA, S. H. G.; LAVRADO H. P. (Eds). Ecologia dos Ambientes Costeiros do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: PPGE-UFRJ. v.7, p. 155-178, 1999.

PAWLIK, J.R.; LOH, T.L.; MCMURRAY, S.E. A review of bottomup vs. top-down control of sponges on Caribbean forereefs: what's old, what's new, and future directions. **PeerJ**, v. 6, 2018.

PITA, L. RIX, L.; SLABY, B.M.; FRANKE, A.; HENTSCHEL, U. The sponge holobiont in a changing ocean: From microbes to ecosystems. v. 6, n. 46, 2018.

RAMADHAN, D.S.F.; SIHARIS, F.I.; ABDURRAHMAN, S.; ISRULA, M.; FAKIH, T.M. In silico analysis of marine natural product from sponge (*Clathria* Sp.) for their activity as inhibitor of SARS-CoV-2 Main Protease. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n.22, 2022.

RAMÍREZ, M.C.A. Terpenos rearranjados da esponja *Darwinella* cf. *oxeata* com potencial leishmanicida. 112f. Dissertação (Mestrado) - **Universidade de São Paulo: São Paulo**, 2017.

SANDIN, A.S.; MCNAMARA, D.E. Spatial dynamics of benthic competition on coral reefs. **Oecologia.**, v. 168, p. 1079-1090, 2012.

SILVA, A.G. Vivendo com o inimigo: competição entre corais invasores *Tubastraea* spp. E a esponja *Desmaysamma anchorata* na Baía de Ilha Grande, RJ. **Dissertação de mestrado**, Universidade estadual do Rio de Janeiro, 2014.

VAN SOEST, R.W.; M.; BOURY-ESNAULT, N.; VACELE, J.T.; DOHRMANN, M.; ERPENBECK, D.; DE VOOGD, N.J.; SANTODOMINGO, N.; VANHOORNE, B.; KELLY, M.; HOOPER, J. N. A. Global Diversity of Sponges (Porifera). An analysis of sponge diversity and distribution at three taxonomic levels in the Thousand Islands/ Jakarta Bay reef complex, West-Java, Indonesia. *Marine Ecology*. **Plos one**.

VAN SOEST, R.W.M., BOURY-ESNAULT, N.; HOOPER, J.; RÜTZLER, K.; DE VOOGD, N.J.; ALVAREZ, B.; HAJDU, E.; PISERA, A.; VACELET, J.; MANCONI, R.; SCHOENBERG, C.; JANUSSEN, D.; TABACHNICK, K.R.; KLAUTAU, M. (2023) World Porifera Database. Available from: <http://www.marinespecies.org/porifera/> (Janeiro 2023).

VAN SOEST, R.W.M; BOURY-ESNAULT, N.; HOOPER, J.N.A.; RÜTZLER, K.; DE VOOGD, N.J.; ALVAREZ DE GLASBY, B.; HAJDU, E.; PISERA, A.B.; MANCONI, R.; SCHOENBERG, C.; JANUSSEN, D.; TABACHNICK, K.R.; KLAUTAU, M.; PICTON, B.; KELLY, M.; VACELET, J.; DOHRMANN, M.; DÍAZ, M.-C.; CÁRDENAS, P. World Porifera database. 2016.

WEBSTER, N.S.; THOMAS, T. The Sponge Hologenome. **Microbiome**, v. 7, 2016.

WILSON, K.; ROND, T.; BURKHARDT, I.; BRADLEY, S. Moore Terpene biosynthesis in marine sponge animals. **Biochemistry**, v.120, n.9, 2023.

WULFF, J.L. Targeted predator defenses of sponges shape community organization and tropical marine ecosystem function. **Journal: Ecological Monograph**, 2020.

Capítulo 1

Taxonomia da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ.

RESUMO

O gênero *Darwinella* foi identificado pela primeira vez para Baía do Arraial do Cabo, litoral do Rio de Janeiro, em 1991. Neste período, a espécie foi identificada como *Darwinella gardineri*, porém, após 15 anos do primeiro estudo foi reclassificada a nível de gênero (*Darwinella* sp.) devido à dificuldade de identificação. Além disso, sua distribuição era rara, mas, atualmente, esta esponja recobre grandes extensões de substratos naturais da região. Dessa maneira, o objetivo do presente estudo foi verificar o status taxonômico dos morfotipos de *Darwinella* sp. que ocorrem nos ambientes bentônicos de Arraial do Cabo. Para tal, foram coletados seis espécimes da esponja na Ilha dos Porcos, localizada na Baía do Arraial do Cabo, e os caracteres morfológicos externos e internos foram analisados em laboratório e comparados com a literatura disponível sobre as espécies deste gênero. Através dos caracteres morfológicos como: coloração *in vivo* e pós fixado, espessura, consistência, presença de ósculos e cênulos, espiculoides e fibras de espongina foi possível observar que a *Darwinella* sp. presente na região do estudo se assemelha com *D. gardineri*, *Darwinella oxeata* e *Darwinella pronzatoi*. No entanto, algumas diferenças morfológicas foram observadas, tais como cor da esponja *in vivo* e após fixação em etanol; o comprimento, largura e cor das fibras de espongina; o tamanho e forma dos espiculoides sugerem que a esponja presente em Arraial do Cabo seja uma espécie distinta das demais já conhecidas para o gênero. Porém, será ainda necessária a comparação dos holótipos das espécies que mais se aproximam do morfotipo estudado em Arraial do Cabo, juntamente com uma abordagem genética (taxonomia molecular) para confirmar.

Palavra-chave: identificação de espécies, *Darwinella*, taxonomia, abordagem morfológica.

ABSTRACT

The genus *Darwinella* was first identified for Arraial do Cabo Bay, coast of Rio de Janeiro, in 1991. In this period, the species was identified as *Darwinella gardineri*, but 15 years after the first study it was reclassified to the genus level (*Darwinella* sp.) due to the difficulty of identification. Furthermore, its distribution was rare, but nowadays this sponge covers large extensions of natural substrata in the region. Thus, the objective of the present study was to verify the taxonomic status of *Darwinella* sp. morphotypes occurring in the benthic environments of Arraial do Cabo. For this purpose, six specimens of the sponge were collected at Ilha dos Porcos, located in Arraial do Cabo Bay, and the external and internal morphological characters were analyzed in the laboratory and compared with the available literature on the species of this genus. Through the morphological characters such as: *in vivo* and post-fixation coloration, thickness, consistency, presence of osculi and conules, spiculoids and spongin fibers it was possible to observe that *Darwinella* sp. present in the study region resembles *D. gardineri*, *Darwinella oxeata* and *Darwinella pronzato*. However, some morphological differences observed, such as sponge color *in vivo* and after fixation in ethanol; the length, width and color of the spongin fibers; the size and shape of the spiculoids suggest that the sponge present in Arraial do Cabo is a distinct species from the others already known for the genus. However, it will still be necessary to compare the holotypes of the species that most closely resemble the morphotype studied in Arraial do Cabo, together with a genetic approach (the molecular taxonomy) to confirm it.

Keyword: species identification, taxonomy, *Darwinella* and morphological approach.

1.1 INTRODUÇÃO

As esponjas (Filo Porifera) pertencem ao grupo de metazoários mais antigos existentes no planeta (Giribet e Edgecombe 2020; Hooper e van Soest 2002), com registro fóssil mais antigo para o grupo datado de 535-750 milhões de anos (Antcliffe *et al.* 2014; Suarez e Leys 2022). Estes animais foram importantes bioconstrutores de recifes no passado (Giribet e Edgecombe 2020) e atualmente são importantes constituintes das comunidades bentônicas, e estão distribuídos predominantemente em ambientes marinhos, em regiões tropicais, temperadas e polares (Bell e Barnes 2003; Bell e Smith 2004; Bell, 2008; Carballo *et al.* 2008; Hajdu *et al.* 2013; Hajdu *et al.* 2015; Pérez *et al.* 2017; Pacheco *et al.* 2018).

As esponjas são animais sésseis e filtradores constituídos por estrutura corporal e organização celular simples, formado por conjunto de células semelhantes a um tecido, com corpo organizado em três camadas: a pinacoderme (função de revestimento externo e interno), o mesoóilo (contém elementos esqueléticos entre outras células) e a coanoderme (células flageladas; função na filtração e reprodução) (Brusca *et al.* 2018). Essas estruturas integradas formam um sistema aquífero responsável por todos os processos fisiológicos desses animais (nutrição, respiração, excreção e reprodução). A estrutura esquelética de sustentação é bem desenvolvida na maioria das esponjas, formada por elementos minerais, as espículas, constituídas de sílica ou carbonato de cálcio, que podem ser complementadas ou substituídas por fibras de espongina ou colágeno amorfo (Giribet e Edgecombe 2020; Łukowiak *et al.* 2022).

Tradicionalmente, a identificação das esponjas é feita por meio de análises de caracteres morfológicos, tais como composição de espículas e arquitetura do esqueleto (Boury-Esnault; Rützler 1997; Łukowiak *et al.* 2022). A morfologia das espículas e seu arranjo no esqueleto, juntamente com outras características importantes da esponja (morfologia externa), como forma, aspecto da superfície, consistência, textura e cor, são essenciais para o estudo taxonômico das esponjas (Collin *et al.* 2005; Domala 2020). Além disso, informações complementares tais como ciclo de vida, ecologia e biogeografia também são utilizadas (Boury-Esnault *et al.* 2013; Perez *et al.* 2017). Porém, devido ao alto grau de plasticidade fenotípica (sem diferença genética) e elevada variabilidade morfológica/alto polimorfismo (com diferença genética) das esponjas, características não morfológicas reveladas por estudos genéticos e bioquímicos vêm sendo utilizadas para apoiar ou refutar identificações baseadas somente nas análises dos caracteres morfológicos (Erpenbek *et al.* 2012 e 2015).

Embora o uso da taxonomia morfológica convencional para a identificação de um táxon possua certas limitações, ainda é uma ferramenta bastante utilizada na taxonomia de esponjas (ver Collin *et al.* 2005; Domala 2020 Łukowiak, 2016b). Ainda hoje, taxonomistas identificam muitas espécies utilizando apenas os caracteres morfológicos, como é o caso, por exemplo, da publicação recente de Bertolino e colaboradores (2020) que contém a descrição da espécie nova *Darwinella pronzatoi* Bertolino, Costa e Pansini, 2020 para a costa do Chile.

Segundo de Voogd *et al.* (2023), atualmente existem 9.550 espécies de esponjas descritas no mundo, distribuídas em quatro classes viventes: Calcarea Bowerbank, 1864, Demospongiae Sollas, 1885, Homoscleromorpha Bergquist,

1978 e Hexactinellida Schmidt, 1870, que se diferenciam, principalmente, por suas características esqueléticas e morfológicas.

A Classe Calcarea é representada por esponjas exclusivamente marinhas que apresentam um esqueleto formado por espículas de carbonato de cálcio (CaCO_3), sendo restritas, geralmente, a ambientes de águas rasas (Klautau *et al.* 2022). A Classe Hexactinellida é caracterizada por possuir espículas silicosas e organização corporal sincicial, sendo esponjas exclusivamente marinhas e amplamente distribuídas em águas profundas (Leys, Mackie e Reiswig, 2007; Łukowiak 2020). A Classe Homoscleromorpha é representada por esponjas exclusivamente marinhas, possuem membrana basal de colágeno, espículas também são de sílica, porém apresentam um tipo peculiar de tetractina (Gavaze *et al.* 2010; Łukowiak 2020). A classe Demospongiae é caracterizada por esqueleto composto por espículas silicosas (SiO_2) e/ou fibras de espongina, e por possuir espículas e ou espiculóides monoactinais, diactinais ou tetractinais de simetria monoaxônica ou tetraxônica (Hooper e van Soest 2002a; Morrow e Cárdenas 2015). A classe Demospongiae está subdividida em três subclasses viventes: Keratosa (Grant, 1861), Verongimorpha (Erpenbeck, Sutcliffe, De Cook, Dietzel, Maldonado, van Soest, Hooper e Wörheide, 2012) e Heteroscleromorpha (Cárdenas, Pérez e Boury-Esnault, 2012), que juntas representam 85% de todas as espécies de esponjas, com aproximadamente 6.000 espécies descritas (van Soest 2002a; van Soest *et al.* 2016).

A subclasse Keratosa Grant, 1861 contém duas ordens Dendroceratida Minchin, 1900 e Dyctioceratida Minchin, 1900. As esponjas da ordem Dendroceratida apresentam esqueleto de fibra sempre presente que surgem de uma placa basal com estrutura dendríticas ou um padrão de anastomose. As

fibras sempre contêm medula e são fortemente laminadas, as espículas fibrosas livres podem complementar o esqueleto principal (Morrow e Cárdenas 2015). A ordem Dendroceratida está dividida em duas famílias: Dictyodendrillidae Berquist, 1980 com esqueleto fibroso no padrão reticulado e Darwinellidae Merejkowsky, 1879, com fibras de espongina no padrão dendrítico (Bergquist e Cook, 2002). A família Darwinellidae compreende cinco gêneros válidos: *Aplysilla* Schulze, 1878 (10 spp.), *Armodendrilla* Van Soest & Hooper, 2020 (1 sp.), *Chelonaplysilla* de Laubenfels, 1948 (10 spp.), *Dendrilla* Lendenfeld, 1883 (10 spp.), *Darwinella* Müller, 1865 (14 spp.).

O gênero *Darwinella* é o mais rico da família e possui como principais características morfológicas esqueléticas fibras de espongina e estruturas semelhantes às espículas, porém fibrosas, conhecidas como espiculoides, que servem para suplementar seu esqueleto. Este gênero vem recebendo pouca atenção da comunidade científica, com grande parte das espécies descrita entre o final do século XIX e meados do XX. Entretanto, como as espécies de *Darwinella* são bioquimicamente interessantes devido à produção de compostos como esterol e terpenos (Ramirez *et al.* 2017), começam a impulsionar estudos taxonômicos com o propósito de se conhecer a identidade de espécies alvo. O desenvolvimento de estudos com substâncias bioativas obtidas a partir extrato bruto de espécies de *Darwinella* mostrou grande potencial farmacológico, apresentando atividade leishmanicida (Ramirez 2017), antimicrobiana (Seleglim *et al.* 2007) e anticâncer (Tian e Potter 2012) e antimiótica (Muricy *et al.* 1999).

Ao todo, 14 espécies de *Darwinella* são reconhecidamente válidas para o globo. Na costa brasileira, quatro espécies desse gênero foram reportadas até o momento: *Darwinella australiensis* Carter, 1885 (Solé-Cava 1981- ES, Guarapari);

Darwinella muelleri Schultze, 1865 (Schultze, 1865- SC, Florianópolis); *Darwinella rosacea* Hechtel 1965 (Moraes 2011 -PE, Arquipélago de São Pedro e São Paulo) e *Darwinella gardineri* Topsent, 1905 (Muricy *et al.*, 1991; Muricy e Silva, 1999 - RJ, Arraial do Cabo e Cabo Frio). Entretanto, existe um problema taxonômico envolvendo esta identificação de *D. gardineri* e a mesma foi posteriormente reclassificada como *Darwinella* sp. (Arraial do Cabo, Rio de Janeiro e Angra dos Reis; Muricy e Hajdu 2006) e *D. cf. oxeata* (Cabo Frio; Ramirez *et al.*, 2017). Muricy e colaboradores (1991) foram os primeiros a identificar esse morfotipo presente em Arraial do Cabo como *Darwinella gardineri* usando apenas os caracteres morfológicos como evidência da identificação taxonômica. Recentemente, entretanto, um trabalho realizado por Ramirez *et al.* (2017) identificou espécimes *Darwinella* sp. de Cabo Frio como *Darwinella cf. oxeata*, devido às suas semelhanças físicas e químicas, a partir da análise de substâncias isoladas, contudo a forma de identificação da espécie não foi informada no estudo. Além disso, no final da década de 80, *Darwinella* sp. era considerada uma espécie rara nos costões rochosos de Arraial do Cabo (RJ), (Muricy 1989; Muricy *et al.* 1991), porém, atualmente, este morfotipo tem sido comumente encontrado em toda região, recobrando grandes extensões de substratos naturais da baía.

Deste modo, o presente trabalho tem por objetivo de verificar o *status* taxonômico dos morfotipos de *Darwinella*, presentes nos ambientes bentônicos de Arraial do Cabo (Muricy 1989; Muricy *et al.* 1991; Muricy e Hajdu 2006; Belmonte *et al.* 2015), por meio de análises de caracteres morfológicos. Este trabalho cumprirá um papel científico bastante relevante na confirmação da presença de uma espécie indopacífica ou na evidência da ocorrência de uma outra espécie do gênero *Darwinella* para a costa sudeste do Brasil.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 Coleta dos espécimes de *Darwinella* sp.

Um total de seis espécimes da esponja *Darwinella* sp. foi coletado na Ilha dos Porcos ($22^{\circ}57'57''\text{S} - 42^{\circ}01'40''\text{W}$), através de mergulho autônomo (SCUBA) entre 3 – 10 metros de profundidade (**Figura 1.1**). Os espécimes foram coletados com auxílio de uma espátula e armazenados em sacos hermeticos. Após a coleta, os organismos foram fixados em álcool 70% e encaminhados ao Laboratório de Recursos Marinhos (LAREMAR) no Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM). Além disso, os espécimes foram previamente fotografados com uma câmera digital Canon G12 com caixa estanque, na qual foi acoplado um frame de aço inox de 20 x 20 cm à distância focal de 30 cm.

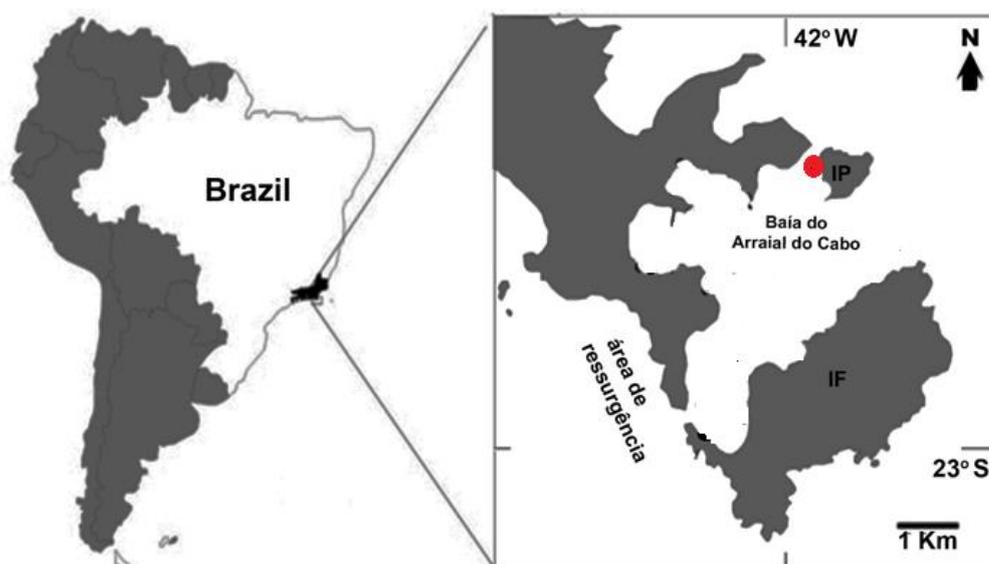


Figura 1.1 Mapa de localização do município de Arraial do Cabo e ponto de coleta dos espécimes de *Darwinella* sp. na Baía do Arraial do Cabo, Ilha dos Porcos (em vermelho).

1.2.2 Análise de dados morfológicos (externos e internos)

Os caracteres morfológicos externos foram registrados em campo, com uso de uma câmera digital Canon G12. Posteriormente, as fotos foram analisadas utilizando o programa *IMAGE J*. Através do programa foram medidos os seguintes caracteres: área total (cm²), distância entre os cônulos (µm), padrão e tamanho dos ósculos (µm). A espessura da esponja (cm) foi medida em laboratório com auxílio de um paquímetro digital (OEMDIGITAL). Ao total, foram realizadas 20 medições para cada caracter morfológico interno (fibras de esponjina e espiculoides) e externo (ósculos e cônulos) dos espécimes coletados. Além disso, foi verificada a coloração do tecido antes e após a fixação em etanol 70%. Em laboratório, para a identificação dos caracteres morfológicos internos, como dos espiculóides e das fibras de esponjinas, foram dissociados do tecido com a diluição de água sanitária em água destilada na proporção de 1:4. Após a remoção, as fibras de esponjina e espiculóides foram montados com meio sintético Entellan (Merck) em lâminas de microscopia. O tamanho (µm) e a forma desses caracteres foram medidos através do microscópio óptico (Nikon Eclipse E200). Para análise do esqueleto, foi cortado um pequeno fragmento de esponja de 0,5x0,5x0,2 cm e montado uma lâmina de corte transversal. Esse fragmento foi desidratado em uma série alcoólica 96%, seguido de Butanol e Xilol, por duas vezes cada, com um período de 10 minutos em cada série. Após a desidratação, esse fragmento foi incluído em parafina derretida e deixada em uma estufa a 60°C. Posteriormente, o fragmento foi colocado em um molde de bloco de parafina, coberto com parafina derretida e deixado para secar em temperatura ambiente. Depois de seco, o bloco foi cortado (5 µm) com auxílio de um micrótomo rotativo de parafina (LUPETEC Modelo MRP2015). As preparações de corte foram submergidas em Xilol para retirar a

parafina. Então, foram colocados em uma lâmina e a lamínula foi selada com Entellan (Muricy *et al.*1998).

1.3 RESULTADOS

SISTEMÁTICA

Subclasse Keratosa Grant, 1861

Ordem Dendroceratida Minchin, 1900

Famila Darwinellidae Merejkowsky, 1879

Gênero *Darwinella* Müller, 1865

Definição: Darwinellidae com esqueleto de fibra dendrítica sustentado por espículas diactinal, triactinal ou poliactinal que estão livres do esqueleto primário. Não há presença de material particulado (areia) em suas fibras, entretanto, possa estar disperso em torno dos elementos celulares. Além disso, as esponjas podem diferir quanto a morfologia apresentada, podem ser incrustantes, lobadas ou maciças (Bergquist e Cook 2002).

Descrição: Esponja apresenta coloração amarelo vibrante *in vivo* (**Figura 1.2 A**), forma de crescimento incrustante, com superfície de cobertura fina, irregular, com espessura de 1.2 –3.8 mm (**Tabela 1.1**). Os cônulos apresentam-se distribuídos de forma desigual por toda a superfície da esponja, variando em distância de 0.6 – 4.5 mm (média 3.8 mm) (**Tabela 1.1**). Os ósculos estão distribuídos de forma uniforme pelo tecido da esponja, alternando de forma oval a arredondado com diâmetro entre 0.5 – 3.3 mm (média 3.2 mm) (**Tabela 1.1**). Após fixação no etanol 70%, a coloração da esponja torna se roxa escura (**Figura 1.2 B**).

Esqueleto: Fibras dendríticas ascendentes que sustentam os cônulos superficiais, onde algumas surgem da placa basal comum. Possuem coloração avermelhada, e medem de comprimento 1.030 – 3.500 μm e 40 – 200 μm de espessura (média 1830 x 71 μm) (**Figura 1.2 F - Tabela 1.2**).

Espículooides: Estruturas retas, sinuosas ou apresentando curvaturas. Com comprimento variando entre 610 –1820 μm (média 1062 μm) e espessura 9–20 μm (média 10.7 μm) (**Figura 1.2 C, D e E – Tabela 1.2**).

Habitat: Os espécimes foram encontrados sob substratos rochosos natural, com inclinação de 90°, expostos à incidência luminosa. Profundidades entre três e 10 metros.

Localidade tipo: Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil.

Material examinado: material tipo; Holótipo (Número do tombo – IEAPM 4.203).

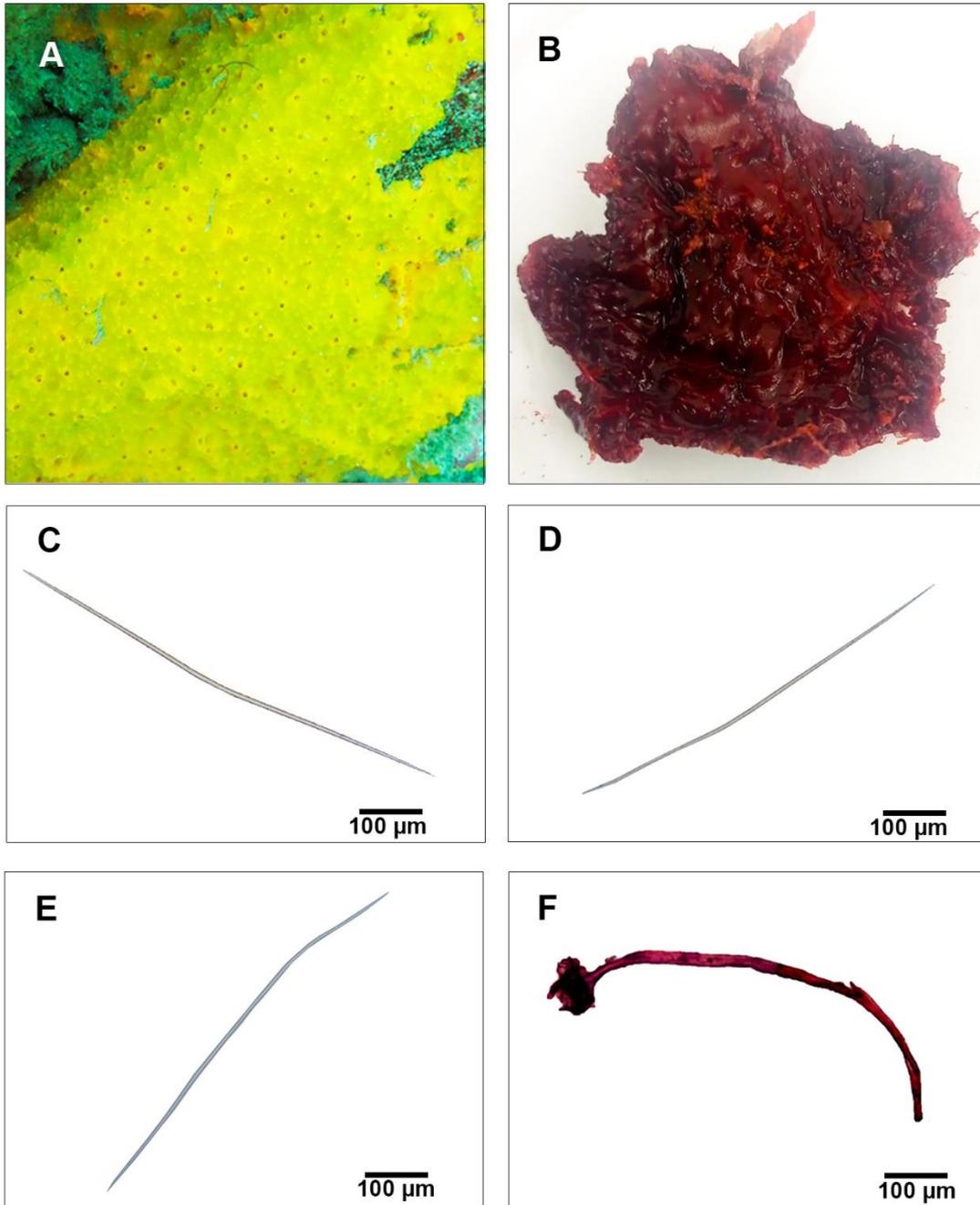


Figura 1.2 Em (A) espécime de *Darwinella* sp. coletada na Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo, RJ em vida. Em (B) espécime pós fixada. Em (C, D, E e F) caracteres morfológicos internos analisados, espiculoides fibrosos e fibras de esponjina.

Tabela 1.1 Descrição morfológica dos caracteres externos dos seis espécimes de *Darwinella* sp.: área total (cm²), espessura (mm), diâmetro dos ósculos (mm) e distância entre cônulos (mm).

Espécimes <i>Darwinella</i> sp.	Área total (cm ²)	Espessura (mm)	Diâmetro dos ósculos (mm)	Distância entre os cônulos (mm)
1	634,18	1.5 – 2.8	0.6 – 1.0	0.7 – 3.3
2	587,51	1.7 – 3.2	0.5 – 1.8	0.6 – 2.8
3	382,80	1.3 – 3.0	0.9 – 1.2	1.7 – 3.9
4	365,55	1.7 – 3.5	0.6 – 1.9	0.8 – 3.7
5	734,90	1.2 – 3.8	0.6 – 2.8	1.1 – 4.5
6	790,35	1.8 – 3.2	0.8 – 3.3	1.0 – 4.4
Média	582,54	2.40	3.2	3.8
Desvio Padrão	161,28	0.94	5.0	4.2

Tabela 1.2 Descrição morfológica dos caracteres internos dos seis espécimes de *Darwinella* sp. coletados: comprimento e espessura (mínimo e máximo) das fibras de espongina (mm), e espiculóides (µm).

Espécimes <i>Darwinella</i> sp.	Fibras de espongina		Espiculóides	
	Comprimento (µm)	Espessura (µm)	Comprimento (µm)	Espessura (µm)
1	1.650 – 3.150	50 – 150	950 – 1.820	10 – 20
2	1.100 – 2.500	50 – 200	610 – 1.350	9 – 18
3	1.700 – 2.100	60 – 90	620 – 1.410	9 – 12
4	1.050 – 3.500	50 – 100	740 – 1.650	9 – 15
5	1.900 – 2.450	70 – 120	760 – 1.250	9 – 12
6	1.030 – 1.920	40 – 70	700 – 1.380	9 – 11
Média	1830	71.15	1062.38	10.77
Desvio Padrão	556.37	29.57	279.55	2.47

Os principais caracteres morfológicos avaliados no estudo foram comparados com caracteres morfológicos de outras espécies do gênero *Darwinella* que mais se assemelham ao morfotipo de Arraial do Cabo, conforme tabela 1.3 abaixo.

Tabela 1.3 Caracteres taxonômicos descritos para as espécies do gênero *Darwinella* (*Darwinella gardineri*, *Darwinella oxeata*, *Darwinella pronzatoï*) que mais se assemelham ao morfotipo observado no atual estudo.

Caracteres taxonômicos	<i>Darwinella</i> (atual estudo)	<i>Darwinella gardineri</i>	<i>Darwinella oxeata</i>	<i>Darwinella pronzatoï</i>
Localidade descrição	Arraial do Cabo	Ilhas Maldivas	Nova Zelândia	Patagônia Chilena
Coloração in vivo	amarelo vibrante	vermelho carmim	amarelo	amarelo
Coloração pós fixada	Roxa escura	Rosa	Roxo púrpura	Não informado
Distância entre os cónulos (mm)	0.6 – 4.5	1.5 – 3.0	2.0 – 5.0	Não informado
Diâmetro dos ósculos (mm)	0.5– 3.3	0.1 – 2.0	0.8 – 1.0	Não informado
Cor das fibras	avermelhada	Ouro palha translúcido	Ouro palha	avermelhada
Comprimento das fibras (µm)	1.030 – 3.500	2000	Não informado	14.000 – 16.000
Diâmetro das fibras (µm)	40 – 200	120 – 140	106 – 193	70 – 90
Comprimento dos espiculoides (µm)	610 – 1.820	1600 – 2000	530 – 2083	87,5 – 830
Diâmetro dos espiculoides (µm)	9–20	20	24,2–29,8	9 – 16

1.4 CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que os espécimes examinados de *Darwinella* sp., apresentam espiculoides fibrosos diactinais ligeiramente retos, sinuosos ou curvos nas extremidades, medindo entre 610 – 1820 x 9 – 20 µm (Tabela 3), para os quais espinhos fibrosos estão ausentes. Essa característica do esqueleto dos espécimes encontrados em Arraial do Cabo pode diferenciar *Darwinella* sp. das demais espécies do gênero (Bergquist 1961, 1996).

No mundo, são reconhecidas como válidas 14 espécies do gênero *Darwinella* (van Soest *et al.* 2011). No Brasil, ao todo foram identificadas quatro espécies para o gênero *Darwinella*, sendo elas: *Darwinella australiensis* Carter, 1885 em Guarapari (ES); *Darwinella gardineri* Topsent, 1905 em Arraial do Cabo e Cabo Frio (RJ); *Darwinella muelleri* (Schultze, 1865) em Florianópolis (SC) e *Darwinella rosacea* Hechtel, 1965 no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (PE). Dentre todas as espécies descritas para gênero, nove possuem espiculoides multirradiados, três apresentam espiculoides diactinais (*Darwinella gardineri*, *Darwinella oxeata*, *Darwinella pronzatoï*) e apenas uma espécie não possui espiculoides (*Darwinella tango* Poiner e Taylor, 1990) (Anexo B).

As três espécies descritas na ciência que também possuem espiculoides fibrosos diactinais são originárias de outros oceanos: (1) *Darwinella gardineri* descrita, originalmente, para as Ilhas Maldivas (Oceano Índico), com espiculoides fibrosos curvos ou ligeiramente curvos nas extremidades (1600 – 2000 × 20 µm), (2) *Darwinella oxeata* Bergquist, 1961, descrita originalmente para a Nova Zelândia (Oceano Pacífico), portando espiculoides fibrosos espinhosos (530 – 2083 × 24,2–29,8 µm) e; (3) *Darwinella pronzatoï* descrita originalmente para os Fiordes da Patagônia Chilena, e que possui espiculoides fibrosos lisos, retos, levemente curvos ou sinuosos (87,5–830 × 9–16 µm) e com núcleo axial aparente (Topsent 1905; Pronzato 1975; Bergquist 1961, Bertolino *et al.* 2020). Outros caracteres morfológicos encontrados nos morfotipos de Arraial do Cabo, tais como, tamanho das fibras de espongina (1.030 – 3500 × 40 – 200 µm), diâmetros dos ósculos (0.5 – 3.3 mm) e distância entre os cônulos (0.6 – 4.5 mm), diferem dos caracteres originalmente descritos para estas três espécies que possuem apenas espiculoides diactinais (Tabela 1.3).

Apesar de *Darwinella* sp. e *D. pronzato*i possuírem a mesma coloração amarela na morfologia externa *in vivo* e avermelhada nas fibras de espongina, a faixa de tamanho dessas fibras difere entre essas duas espécies. No presente estudo, o comprimento e espessura das fibras de *Darwinella* sp. foram 1.030 – 3500 x 40 – 200 µm, já em *D. pronzato*i foram 14.000 – 16.000 µm x 70 – 90 µm (Tabela 1.3). *Darwinella oxeata* também possui a mesma coloração externa amarela *in vivo* e roxo púrpura após sua fixação em etanol, semelhante à *Darwinella* sp.. Contudo, a cor de suas fibras de espongina é ouro palha, enquanto em *Darwinella* sp. é avermelhada. Além disso, Bergquist (1961) e (1996) não informou o comprimento das fibras na descrição original de *D. oxeata*, apenas o diâmetro foi informado (106 – 193 µm e 200 – 300 µm). Desta forma, não é possível comparar com os valores mensurados no presente estudo. Outro caracter que difere entre *D. oxeata* e *Darwinella* sp. de Arraial do Cabo é a presença de espinhos córneos (fibrosos) nos espiculoides da primeira espécie e ausência deles na última (Tabela 1.3).

A coloração externa rosa descrita para *D. gardineri* já foi alvo de contradições em publicações científicas. Originalmente, Topsent (1905) descreveu *D. gardineri* com uma coloração rosa em álcool e deduziu uma pigmentação 'vermelho carmim' em vida. Posteriormente, a pigmentação rosa avermelhada foi corroborada por Levi (1952) na revisão das espécies de *Darwinella*. No entanto, esponjas amarelas coletadas no Mar vermelho e na Austrália já foram identificadas como *D. gardineri* (Levi 1958; Wiednmayer 1989), fato que trouxe contradição da na determinação da cor dessa espécie. Bergquist (1996) confirmou a coloração pós fixada da espécie (rosa profundo) *Darwinella gardineri* anteriormente sugerida por Topsent (1905) com espécimes coletadas na Nova Zelândia. Além disso, Bergquist (1996) estudou a pigmentação de esponjas da Ordem Dendroceratida da Nova Zelândia, e algumas espécies da Austrália, Havaí e Mediterrâneo, através da observação no campo

juntamente com técnicas de microscopia eletrônica e análise química. Neste trabalho ficou constatado que a pigmentação é uniforme em todo o tecido mole, variando apenas em tons leves dentro de uma espécie, ou seja, a coloração avermelhada desbota para castanho-rosado claro no etanol, a coloração amarelo-enxofre torna-se preto-púrpura profundo.

O comprimento da fibra de esponjina também não foi um bom carácter para separar *D. gardineri* de *Darwinella* sp., uma vez que foi informado apenas um único valor (2000 µm) na descrição da primeira espécie. O valor do diâmetro das fibras foi descrito por Pronzato (1975) e Bergquist (1996), que variaram entre 120 – 140 µm e 700–1000 µm, respectivamente. O comprimento informado está dentro da faixa de tamanho registrado no presente trabalho para *Darwinella* sp. (1.030 – 3500 x 40 – 200 µm). Porém, as medições do diâmetro da fibra de *Darwinella* sp. se aproximam mais da espécie descrita por Pronzato (1975). Por outro lado, a cor da fibra de esponjina (ouro palha translúcido), distância entre os cónulos (1.5 – 3.0 mm) e o diâmetro dos ósculos (1.0 – 2.0 mm) de *D. gardineri* (Bergquist 1996) diferem de *Darwinella* sp. que possui fibra de esponjina avermelhada, distância entre os cónulos (0.6 – 4.5 mm) e o diâmetro dos ósculos (0.5– 3.3 mm) (Tabela 1.3). Similarmente, os valores encontrados para *D. oxeata* também são diferentes do registrado para esponja do presente estudo (Tabela 1.3). Bergquist (1996) descreve *D. oxeata* com os valores de distância dos cónulos variando de 2 a 5 mm e ósculos distribuídos esporadicamente por toda a superfície da esponja, medindo aproximadamente de 0.8 a 1.0 mm de diâmetro. Para *D. pronzatoii*, essas informações são ausentes, sendo impossível, portanto, estabelecer a comparação (Tabela 1.3).

Cientistas utilizam cada vez mais a taxonomia integrativa para identificação das espécies. A partir do uso integrado de diferentes abordagens, técnicas e ferramentas é possível produzir evidências que são independentes entre si. Essas múltiplas abordagens quando (e.g. microscopia eletrônica, biologia molecular, bioquímica, genética) somadas a taxonomia morfológica convencional garantem resultados mais confiáveis (Kamel *et al.* 2022; Rider *et al.* 2022). Entretanto, estudos baseados na taxonomia clássica ainda são apoiados e publicados pela comunidade científica (Bertolino *et al.* 2020; Lukowiak *et al.* 2022). Apesar das ressalvas quanto à limitação do estudo da morfologia, a descrição de caracteres morfológicos, como forma das espículas e organização do esqueleto, são atributos extremamente relevantes nas identificações, classificações e reconstruções filogenéticas (Lukowiak *et al.* 2022). Segundo Lukowiak (2020) a morfologia das espículas é muitas vezes exclusiva dos táxons ou mesmo da própria espécie, o que torna este caractere particularmente útil em atribuições taxonômicas.

Neste estudo, apesar de apenas seis espécimes terem sido analisados, fica evidente que as diferenças encontradas nas características morfológicas examinadas que auxiliam na identificação das espécies do gênero *Darwinella*; tais como: cor da esponja *in vivo* e após fixação em etanol; fibras de espongina (comprimento, largura e cor); tamanho e forma dos espiculoides; sugerem que a esponja presente em Arraial do Cabo seja uma espécie distinta das demais já conhecidas para o gênero. Entretanto, sabe-se que as esponjas possuem uma grande plasticidade morfológica que, de certo modo, acaba gerando problemas na classificação de poríferos (Manconi e Pronzato 1991; Gaino *et al.* 1995). Muitos dos atributos morfológicos utilizados para classificar os táxons estão sujeitos à elevada plasticidade fenotípica devido à pressão de diferentes fatores ambientais (Pronzato 2003). Portanto, serão necessários examinar os holótipos das espécies que mais se

aproximam do morfotipo estudado em Arraial do Cabo, juntamente com uma abordagem genética (taxonomia molecular) para validar a possível descrição de uma nova espécie para o gênero.

1.5 CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos analisados para os espécimes do gênero *Darwinella* sp. presentes na região de Arraial do Cabo são distintos das demais espécies do gênero descritos na literatura. Assim, sugere-se se tratar de uma espécie nova para ciência. Porém, para confirmação da existência de uma nova espécie ou caracterização de uma espécie já existente para o gênero, serão necessários que características adicionais da espécie sejam utilizadas em estudos futuros.

ANEXOS

ANEXO A. Figuras das espécies do gênero *Darwinella* que mais se assemelham ao morfotipo da espécie encontrada em Arraial do Cabo.

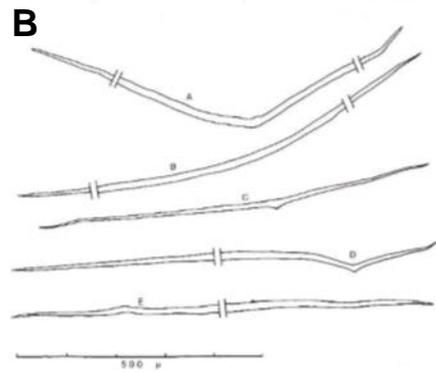


Figura 1A. Coloração e fibras de esponjina descritos para as espécies *Darwinella gardineri*. Em (A) esponja *in vivo*, em (B) espiculoides.

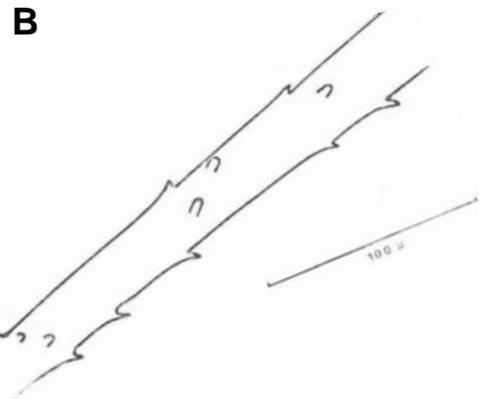


Figura 2A. Coloração e fibras de esponjina descritos para as espécies *Darwinella oxeata*. Em (A) esponja *in vivo*, em (B) espiculoides.

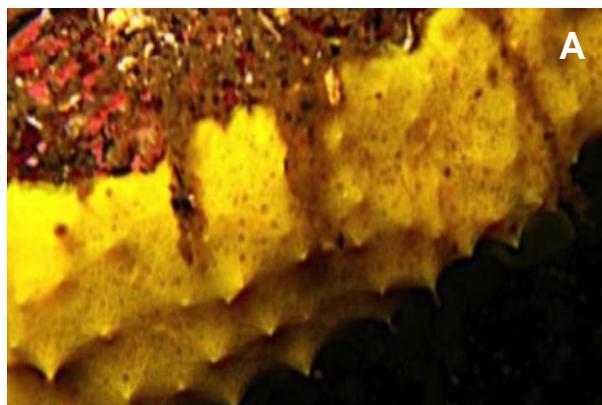


Figura A3. Coloração e fibras de esponjina descritos para as espécies *Darwinella pronzatoii*. Em (A) esponja *in vivo*, em (B) espiculoides.

ANEXO B. Listagem de espécies descritas para o gênero *Darwinella*, de acordo com World Porifera Data Base (WPD). Dados da tabela: espécie, formato e tamanho do espiculoide (comprimento e diâmetro µm), coloração da esponja in vivo, distribuição no mundo e pontos de ocorrência no Brasil.

Espécie	Formato do Espiculoide	Espiculóides Comprimento x diâmetro	Coloração (<i>in vivo</i>)	Distribuição Mundial	Ocorrência no Brasil
<i>Darwinella australiensis</i> Carter, 1885	Diactinal Triactinal Poliactinal (raro)	70 – 90 x 35 – 45 µm 1170 x 55µm	Vermelha	Austrália, Costa oeste da África e Mediterrâneo	Guarapari, ES
<i>Darwinella corneostellata</i> (Carter, 1872)	Poliactinal	1700 µm	Rosa	Oceano Indico (Maldivas) Mar Mediterrâneo (Itália) Mar Vermelho	Arraial do Cabo, RJ.
<i>Darwinella Dalmatica</i> Topsent, 1905	Poliactinal	80 – 200 x 50 µm	Amarela	Mar Adriático Norte do oceano Atlântico	
<i>Darwinella duplex</i> Topsent, 1905	Triactinal Tretactinal (raro)	1200 –1400 x 30 – 40 µm	Rosa avermelhada	Atlântico Norte Atlântico Sul (Europa)	

Espécie	Formato do Espiculoide	Espiculóides Comprimento x diâmetro	Coloração (<i>in vivo</i>)	Distribuição Mundial	Ocorrência no Brasil
<i>Darwinella guardineri</i> Topsent, 1905	Diactinal	1600 – 2000 x 20 µm	Rosa	Nova Zelândia Ilhas Maldivas	Arraial do Cabo, RJ.
<i>Darwinella intermedia</i> Topsent, 1893	Diactinal	100 – 150 x 12 –13 µm	Amarelo	Mediterrâneo Norte do Oceano Atlântico Golfo de Sidra - Tunísia	
<i>Darwinella muelleri</i> (Schultze, 1865)	<u>Triactinal</u> <u>Poliactinal</u>	100 –1000 µm	Amarelo	Bermudas Golfo do México	Florianópolis, SC.
<i>Darwinella oxeata</i> Bergquist, 1961	Diactinal	530 – 2083 x 24 – 29 µm	Amarela	Nova Zelândia	

Espécie	Formato do Espiculóide	Espiculóides Comprimento x diâmetro	Coloração (in vivo)	Distribuição Mundial	Ocorrência no Brasil
<i>Darwinella pronzatoï</i> Bertolino, Costa & Pansini, 2020	Diactinal	87,5 – 830 x 9 –16 µm	Amarela	Chile	
<i>Darwinella rosacea</i> Hechtel,1965	Triactinal	130 – 270 x 10 –17 µm	Rosa	Bermudas, Caribe, Cuba.	Arquipélago de São Pedro e São Paulo
<i>Darwinella simplex</i> Topsent, 1892	Triactinal	1100 – 1250 x 45 –50 µm	Vermelha	Açores, Canárias, Madeira, Norte do Oceano Atlântico, Mediterrâneo Ocidental	
<i>Darwinella tango</i> (Poiner & Taylor,1990)	Ausente		Amarela	Austrália	
<i>Darwinella viscosa</i> Boury-Esnault,1971	Diactinal Triactinal	1500 – 2000 x 295 –780 µm	Laranja	Mediterrâneo Norte do Oceano Atlântico	
<i>Darwinella warreni</i> Topsent,1905	Poliactinal 4-9 actinas	100 – 1500 x 65 –70 µm	Vermelho	África do Sul	
<i>Darwinella</i> (atual estudo)	Diactinal	610 – 1820 x 9 – 20 µm	Amarelo		Arraial do Cabo

1.6 REFERÊNCIAS

ANTCLIFFE, J.B., CALLOW, R.H.T., BRASIER, M.D. Giving the early fossil record of sponges a squeeze. **Biological Reviews**, p.1, 2014.

BELL, J.J.; BARNES, D.K.A. The importance of competitor identity, morphology and ranking methodology to outcomes in interference competition between sponges. **Marine Biology**, v.143, p. 415–426, 2003.

BELL, J.J. The functional roles of marine sponges. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.79, n. 3, p. 341-353, 2008.

BELL, J.J.; BARNES, D.K.A. The importance of competitor identity, morphology and ranking methodology to outcomes in interference competition between sponges. **Marine Biology**, v. 143, p. 415–426, 2003.

BERGQUIST, P. R. A revision of the supraspecific classification of the orders Dictyoceratida, Dendroceratida and Verongida (class Demospongiae). **New Zealand Journal of Zoology**, v. 7, n. 4, p. 443-503, 1980.

BERGQUIST, P. R. Sponges. Hutchinson and Company, London, 1978.

BERGQUIST, P. R.; COOK, S. DE C. Family Darwinellidae. In: HOOPER, J. N. A.; VAN SOEST, R. W. M. (Eds). **Systema Porifera**: A guide to the supraspecific classification of the phylum Porifera. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 1068-1069, 2002b.

BERGQUIST, P.R. The Keratosa (Porifera) of the Chatham Islands and Chatham Rise collected by the Chatham Islands 1954 Expedition. N.Z. **Department of Scientific and Industrial Researching Bulletin**, v. 139, nº 5, p.: 207-219.

BERGQUIST, P.R. The marine fauna of New Zealand: Porifera: Demospongiae: Part 5. Dendroceratida and Halisarcida. National Institute of Water and Atmospheric Research. **New Zealand Oceanographic Institute Memoir**, 1996.

BERGQUIST, P.R.; KARUSO, P.; CAMBIE, R.C.; SMITH, D.J. Sterol Composition and Classification of the Porifera. **Biochemica/Systematics and Ecology**, v. 19, n. 1, p. 17-24, 1991.

BERQUIST, P.R.; COOK, S.C. Family Darwinellidae Merejkowsky, 1879. In: HOOPER, J.N.A.; VAN SOEST, R.W.M. (eds). *Systema Porifera: A guide to the classification of sponges*. **Kluwer Academic/Plenum, New York**, p. 1082–1085, 2002b.

BERQUIST, P.R.; COOK, S.C. Family Darwinellidae Merejkowsky, 1879. In: HOOPER, J.N.A.; VAN SOEST, R.W.M. (eds). *Systema Porifera: A guide to the classification of sponges*. **Kluwer Academic/Plenum, New York**, p. 1082–1085, 2002.

BERTOLINO, M.; COSTA, G.; BAVESTRELLO, G.; PANSINI, M.; DANERI, G. New sponge species from Seno Magdalena, Puyuhuapi Fjord and Jacaf Canal (Chile). **European Journal of Taxonomy**, v. 715, p. 1–49, 2020.

BISPO, A. Taxonomia do Gênero Grant, 1835 (Demospongiae: Haplosclerida: Chalinidae) do Brasil. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 154p, 2015.

BRUSCA, R.C.; MOORE, W., SHUSTER, S.M. Invertebrados. 3a edição. **Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro**, p. 1010, 2018.

CARBALLO, J.L.; BAUTISTA-GUERRERO, E.; LEYTE-MORALES, G.E. Boring sponges and the modeling of coral reefs in the East Pacific Ocean. **Marine Ecology Progress Series**, v. 356, p. 113–122, 2008.

CARBALLO J.L. Effect of natural sedimentation on the structure of tropical rocky sponge assemblages. **Ecoscience**, v. 13, p. 119–130, 2006.

CÁRDENAS, P.; PÉREZ, T.; BOURY-ESNAULT, N. Chapter two - Sponge Systematics Facing New Challenges. **Advances in Marine Biology**, v. 61, p. 79-209, 2012.

CHELOSSI, E.; MILANESE, M.; MILANO, A.; PRONZATO, R.; RICCARDI, G. Characterisation and antimicrobial activity of epibiotic bacteria from *Petrosia ficiformis*

(Porifera, Demospongiae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 309, p. 21–33, 2004.

DE VOOGD, N.J.; ALVAREZ, B.; BOURY-ESNAULT, N.; CARBALLO, J.L.; CÁRDENAS, P.; DÍAZ, M.-C.; DOHRMANN, M.; DOWNEY, R.; HAJDU, E.; HOOPER, J.N.A.; KELLY, M.; KLAUTAU, M.; MANCONI, R.; MORROW, C.C. PISERA, A.B.; RÍOS, P.; RÜTZLER, K.; SCHÖNBERG, C.; VACELET, J.; VAN SOEST, R.W.M. (2022). **World Porifera Database**. *Darwinella gardineri* Topsent, 1905.

DE VOOGD, N.J.; ALVAREZ, B.; BOURY-ESNAULT, N.; CARBALLO, J.L.; CÁRDENAS, P.; DÍAZ, M.-C.; DOHRMANN, M.; DOWNEY, R.; HAJDU, E.; HOOPER, J.N.A.; KELLY, M.; KLAUTAU, M.; MANCONI, R.; MORROW, C.C. PISERA, A.B.; RÍOS, P.; RÜTZLER, K.; SCHÖNBERG, C.; VACELET, J.; VAN SOEST, R.W.M. (2022). **World Porifera Database**. *Darwinella oxeata* Bergquist, 1961.

DIAZ, M.C.; RÜTZLER, K. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. *Bulletin of Marine Science* v. 69, p. 535–546, 2001.

DOMALA, S. "PORIFERAL VISION: Deep Transfer Learning-based Sponge Spicules Identification & Taxonomic Classification" Master's Projects, p. 1082, 2022.

HAJDU, E.; CASTELLO-BRANCO, C.; LOPES, D.A.; GOMES SUMIDA, P. Y.; PEREZ, J. A. A. Deep-sea dives reveal an unexpected hexactinellid sponge garden on the Rio Grande Rise (SW Atlantic). A mimicking habitat? *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, v. 146, p. 93-100, 2017.

ERPENBECK, D.; BREEUWER, J.; VAN DER VELDE, H.; VAN SOEST, R. Unravelling host and symbiont phylogenies of halichondrid sponges (Demospongiae, Porifera) using a mitochondrial marker. **Marine Biology**, v. 141, p. 377–386, 2002.

ERPENBECK, D., EKINS, M., ENGHUBER, N. HOOPER, J.N.A., LEHNERT, H., POLISENO, A., SCHUSTER, A., SETIAWAN, E., DE VOOGD, N.J., WÖRHEIDE, G., VAN SOEST, R.W.M. Nothing in (sponge) biology makes sense – except when based on holotypes *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, p. 1-7. **Marine Biological Association of the United Kingdom**. 2015.

GIRARD, E.B. Sponges as bioindicators for microparticulate pollutants? **Environmental Pollution**, v. 268, part a,p. 115-851, 2021.

GIRIBET, G.; EDGECOMBE, G.D. The Invertebrate Tree of Life. **Editora Princeton University**, 1^a ed., 2020.

HAJDU, E.; DESQUEYROUX-FAÚNDEZ, R.; CARVALHO, M.D.; LÔBO-HAJDU, G.; WILLENZ, P.H. Twelve new Demospongiae (Porifera) from Chilean fjords, with remarks upon sponge-derived biogeographic compartments in the SE Pacific. **Zootaxa**, v. 3744, n. 1, p. 1–64, 2013.

HAJDU, E.; PEIXINHO, S.; FERNANDEZ, J.C.C. Esponjas Marinhas da Bahia - Guia de Campo e Laboratório. **Série Livros 45. Museu Nacional/UFRJ**, Rio de Janeiro, p. 276, 2011.

HOOPER, J.; VAN SOEST, R. Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges. **Springer**, New York , 2002.

FORTUNATO, H.F.M.; LÔBO-HAJDU, G. Quantification of the non-indigenous ophiuroid *Ophiothela mirabilis* Verrill, 1867 associated with marine sponges with different morphologies. **Aquatic Invasions**, v.16, 2021.

KLAUTAU, M., LOPES, M.V., TAVARES, G., PÉREZ, T. Integrative taxonomy of calcareous sponges (Porifera: Calcarea) from Réunion Island, Indian Ocean. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 194, n. 3, p. 671–725, 2022.

LEVI, C. Spongiaires de la cote du Senegal. Bulletin de l'Institut Franrais d'Afrique **Noire**, v. 14, n. 1,p. 34-59, 1952.

LEVI, C. Spongiaires de Mer Rouge recueillis par la Calypso (1951-1952). Aimaes de l'Institut **Océanographique**, v. 34,p. 46, 1958.

ŁUKOWIAK M. Utilizing sponge spicules in taxonomic, ecological and environmental reconstructions: a review. **PeerJ**, 2020.

ŁUKOWIAK, M. Spicular analysis of surficial sediments as a supplementary tool for studies of modern sponge communities. **Helgoland Marine Research**, v.70, n. 1, p. 5, 2016b.

ŁUKOWIAK, M., VAN SOEST, R., KLAUTAU, M., PÉREZ, T., PISERA, A., KONSTANTIN, T. The terminology of sponge spicules. **Journal of Morphology**, p. 1–29, 2022.

MALDONADO, M; RIBES, M.; VAN DUYL, F.C. Nutrient fluxes through sponges: biology, budgets, and ecological implications. In: Becerro MA, Uriz MJ, Maldonado M, Turon X (eds), *Advances in Sponge Science: Physiology, Chemical and Microbial Diversity*, Biotechnology. **Academic Press**, Oxford, p 113–182, 2012.

MIRNA, H.R.; SELEGHIM, SIMONE P. LIRA , MIRIAM H. KOSSUGA , TATIANA BATISTA¹ , ROBERTO G. S. BERLINCK, EDUARDO HAJDU , GUILHERME MURICY , ROSANA M. DA ROCHA , GISLENE G. F. DO NASCIMENTO, MARCIO SILVA , ELI F. PIMENTA , OTÁVIO H. THIEMANN , GLAUCIUS OLIVA , BRUNO C. CAVALCANTI , CLAUDIA PESSOA , MANOEL O. DE MORAES , FABIO C. S. GALETTI, CELIO L. SILVA , ANA O. DE SOUZA , SOLANGE PEIXINHO. (2007). Antibiotic, cytotoxic and enzyme inhibitory activity of crude extracts from Brazilian marine invertebrates. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17(3): 287-318.

Moraes, F.C. Esponjas das Ilhas Oceânicas Brasileiras. **Série Livros 44. Rio de Janeiro: Museu Nacional**, p. 252, 2011.

MORROW, C.; CÁRDENAS, P. Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). **Frontiers in Zoology**, v.12, p. 7, 2015.

MURICY, G.; SILVA, O.C. Esponjas marinhas do Estado do Rio de Janeiro: um recurso renovável inexplorado. In: *Ecologia dos Ambientes Costeiros do Estado do Rio de Janeiro. Série Oecologia Brasiliensis*, v. 7, p. 155–178, 1999.

MURICY, G. Sponges as pollution-biomonitoring at Arraial do Cabo, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, p. 347-354, 1989.

MURICY, G.; HAJDU, E. Porifera Brasilis: guia de identificação das esponjas marinhas mais comuns do Sudeste do Brasil. **Museu Nacional, Série Livros 17, Rio de Janeiro**, n. 104, 2006.

MURICY, G.; HAJDU, E.; CUSTÓDIO, M.R.; KLAUTAU, M.; RUSSO, C.; PEIXINHO, S. Sponge distribution at Arraial do Cabo, SE Brazil. In: MAGOON, O.T.; CONVERSE, H.; TIPPIE, V.; TOBIE, L.T.; CLARK, D. (Eds). **Proc. VIIIth Symp Coast Ocean Manag, Long Beach**. ASCE Publ. p. 1183-1195, 1991.

MURICY, G.; LOPES, D.A.; HAJDU, E.; CARVALHO, M.S.; MORAES, F.C.; KLAUTAU, M.; MENEGOLA, C.; PINHEIRO, U. Catalogue of Brazilian Porifera. **Museu Nacional, Série Livros**, p. 300, 2011.

New records of Demospongiae (Porifera) from Reserva Marina El Pelado (Santa Elena, Ecuador), with description of *Tedania* (*Tedania*) *ecuadoriensis* sp. nov. Karla B. Jaramillo^{1,2}, Básilavi Córdor-Luján³, Belinda Longakit², Jenny Rodriguez¹, Olivier P. Thomas⁴, Grace McCormack², Eduardo Hajdu.

PACHECO, C.; CARBALLO, J.L.; CORTÉS, J.; SEGOVIA, J.; TREJO, A. Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and a faunistic record. **Zootaxa**, v.4370, n.5,p. 451–491, 2018.

PAWLIK, J.R.; LOH, T.L.; MCMURRAY, S.E. A review of bottom-up vs. top-down control of sponges on Caribbean fore-reefs: What's old, what's new, and future directions. **PeerJ**, v. 6, p. 4343, 2018.

PÉREZ, T.; DÍAZ, M.C.; RUIZ, C.; CÓNDOR-LUJÁN, B.; KLAUTAU, M.; HAJDU, E. How a collaborative integrated taxonomic effort has trained new spongiologists and improved knowledge of Martinique Island (French Antilles, eastern Caribbean Sea) marine biodiversity. **PLoS ONE**, v.12, n. 3, 2017.

RAMÍREZ, M.C.A. Terpenos rearranjados da esponja *Darwinella* cf. *oxeata* com potencial leishmanicida. 112f. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de São Paulo: São Paulo, 2015.

VAN SOEST, R.W.; M.; BOURY-ESNAULT, N.; VACELE, J.T.; DOHRMANN, M.; ERPENBECK, D.; DE VOOGD, N.J.; SANTODOMINGO, N.; VANHOORNE, B.; KELLY, M.; HOOPER, J. N. A. Global Diversity of Sponges (Porifera). An analysis of sponge diversity and distribution at three taxonomic levels in the Thousand Islands/ Jakarta Bay reef complex, West-Java, Indonesia. *Marine Ecology. Plos one*

ROSA, J.A.F. Evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory potential of the marine sponge *Cliona celata* and assessment of its chemical profile. **Mestrado em Biotecnologia dos Recursos Marinhos**. Politecnico de Leira, 2020.

RÜTZLER, K. Sponges on coral reefs: A community shaped by competitive cooperation. **Bollettino dei Musei e Degli Istituti Biologici dell'Università di Genova**, v. 68, p. 85–148, 2004.

SCHULTZE, M.J.S. Über ein Exemplar von Hyalonema Sieboldi aus Japan und einem Schwamm mit Nadeln aus Hornsubstanz. **Verhandlungen des naturhistorischen Vereins der preussischen Rheinlande und Westfalens**, v. 22, n. 3, p. 6-7, 1865.

VARGAS, S.; SCHUSTER, A., SACHER, K.; BÜTTNER, G., SCHÄTZLE, S.; LÄUCHLI, B., HALL, K.; HOOPER, J.N.A., ERPENBECK, D.; WÖRHEIDE, G. Barcoding Sponges: An Overview Based On Comprehensive Sampling. **Plos one.**, 2012.

SOLÉ-CAVA, A.M., KELECOM, A.; KANNENGIESSER, G.J. Study of sponges (Porifera, Demospongiae) from the infralitoral of Guarapari, Espírito Santo, Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 60, p. 125–150, 1981.

SUAREZ, P.A.; LEYS, S.P. The sponge pump as a morphological character in the fossil record. **Paleobiology**, v. 48, n. 3, p. 446–461, 2022.

TIAN, D., PORTER, J.R. Study of cytotoxic compounds derived from natural products. **Planta Med.**, v. 78, 2012.

URIZ, M.J.; TURON, X.; BECERRO, M.; AGELL, G. Siliceous spicules and skeleton frameworks in sponges: origin, diversity, ultrastructural patterns, and biological functions. **Microscopy Research and Technique**, v. 62, n. 4, p. 279–299, 2003.

WEBSTER, N.S.; TAYLOR, M.W. Marine sponges and their microbial symbionts: love and other relationships. **Environmental Microbiology**, v. 14, p. 335–346, 2011.

WULFF, J. Collaboration among sponge species increases sponge diversity and abundance in a seagrass meadow. **Marine Ecology**, v. 29, p. 193–204, v. 2008.

WULFF, J. Ecological interactions and the distribution, abundance, and diversity of sponges. **Advances in Marine Biology**, v.61, p. 273–344, 2012.

Capítulo 2

**Efeito da temperatura no crescimento da esponja
Darwinella sp. (Porifera: Dendroceratida) de
Arraial do Cabo, RJ, Brasil.**

RESUMO

Por se tratarem de organismos bentônicos e sensíveis as variações ambientais, a dinâmica de crescimento e distribuição das esponjas são influenciadas pela ação de fatores bióticos e abióticos. A temperatura da água do mar se destaca como um dos principais fatores ambientais capazes de influenciar no crescimento das esponjas. A Baía do Arraial do Cabo, localizado no litoral do Rio de Janeiro, é uma área importante para o desenvolvimento de estudos ecológicos e em especial com espécies de esponjas, pois trata-se de uma região sujeita a ação do fenômeno da ressurgência. A esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) foi registrada na região de Arraial do Cabo em 1991, pontualmente em dois locais. Atualmente, esta esponja é comumente observada em diferentes costões rochosos da região. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a temperatura da água do mar influencia no crescimento da esponja *Darwinella* sp.. Para tal, 15 espécimes da esponja foram monitorados durante 14 meses (de abril de 2019 a junho de 2020) em duas localidades distintas da Baía do Arraial do Cabo (Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos), que se encontram sobre influência distinta da ressurgência. Além disso, foi avaliada a ocorrência de *Darwinella* sp. em 11 pontos da baía, com objetivo de registrar presença ou ausência da esponja e comparar essa presença com os registros antigos dessa espécie. A taxa de crescimento dos espécimes de *Darwinella* foi mensurada mensalmente e correlacionadas às temperaturas de cada localidade. O teste paramétrico ANOVA para medidas repetidas foi aplicado para avaliar o crescimento médio da esponja *Darwinella* sp. entre as populações da Ilha de Cabo Frio (CF) e da Ilha dos Porcos (IP), ao longo do período do estudo. Já o teste T Student foi utilizado para comparar a temperatura média da água do mar entre os dois pontos e o teste de correlação Pearson foi utilizado para avaliar a correlação entre a temperatura da água do mar e o crescimento de *Darwinella* sp. nos pontos de estudo. As observações de campo apontaram que a esponja ocorre nas 11 localidades visitadas e está amplamente distribuída pelos costões de Arraial do Cabo. Os resultados encontrados mostraram que há diferença estatística no crescimento da esponja *Darwinella* sp. entre os dois pontos estudados ($F_{13,364}=4,75$ $p < 0,05$). No entanto, o crescimento da esponja não foi influenciado pelo fator temperatura ($p > 0,05$). Além disso, as temperaturas médias, mínimas e máximas não diferiram estatisticamente entre a Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos ($p > 0,05$). Assim, provavelmente outros fatores ambientais não abordados no presente estudos devem ser responsáveis pelas diferenças de crescimento verificado. Em estudos futuros, se faz necessário para avaliar os efeitos sinérgico de outros fatores ambientais no crescimento da esponja visando uma maior compreensão dos padrões de crescimento, distribuição e ocorrência da esponja *Darwinella* sp. em Arraial do Cabo.

Palavras-chave: Esponjas, crescimento, temperatura, ressurgência e Arraial do Cabo

ABSTRACT

As benthic organisms that are sensitive to environmental variations, the dynamics of sponge growth and distribution are influenced by biotic and abiotic factors. Seawater temperature stands out as one of the main environmental factors capable of influencing sponge growth. Arraial do Cabo Bay, located on the coast of Rio de Janeiro, is an important area for the development of ecological studies, especially with sponge species, because it is a region subject to the action of the upwelling phenomenon. The sponge *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) was recorded in the Arraial do Cabo region in 1991, punctually in two sites. Nowadays, this sponge is commonly observed in different rocky shores of the region. Thus, the objective of the present study was to evaluate if the sea water temperature influences the growth of the sponge *Darwinella* sp. For this purpose, 15 specimens of the sponge were monitored during 14 months (from April 2019 to June 2020) at two different localities of Arraial do Cabo Bay (Ilha de Cabo Frio and Ilha dos Porcos), which are under distinct influence of resurgence. In addition, the occurrence of *Darwinella* sp. was assessed at 11 sites in the bay, in order to record the presence or absence of the sponge and to compare this presence with old records of this species. The growth rate of *Darwinella* specimens was measured monthly and correlated to temperatures at each location. The parametric ANOVA test for repeated measures was applied to evaluate the mean growth of *Darwinella* sponges between the populations of Cabo Frio Island (CF) and Ilha dos Porcos (IP), throughout the study period. The Student t-test was used to compare the mean sea water temperature between the two sites, and the Pearson correlation test was used to evaluate the correlation between sea water temperature and *Darwinella* sp. growth in the study sites. The field observations indicated that the sponge occurs in the 11 localities visited and is widely distributed on the coasts of Arraial do Cabo. The results showed that there is a statistical difference in the growth of the *Darwinella* sponge between the two studied sites ($F_{13.364}=4.75$ $p < 0.05$). However, the sponge growth was not influenced by the temperature factor ($p > 0.05$). Furthermore, the mean, minimum and maximum temperatures did not differ statistically between Cabo Frio Island and Ilha dos Porcos ($p > 0.05$). Thus, probably other environmental factors not addressed in the present study should be responsible for the differences in growth observed. In future studies, it is necessary to evaluate the synergetic effects of other environmental factors on sponge growth in order to better understand the growth patterns, distribution and occurrence of the sponge *Darwinella* sp. in Arraial do Cabo.

Keywords: Sponges, growth, temperature, resurgence and Arraial do Cabo

2.1 INTRODUÇÃO

O Filo Porifera é constituído pelas esponjas, que surgiram no planeta há mais de 750 milhões de anos e são consideradas, assim, o grupo de metazoários existente mais antigo dos oceanos (Hooper e van Soest 2002; Antcliffe *et al.*, 2014; Giribet e Edgecombe 2020; Suarez e Leys 2022). As esponjas são organismos resilientes que têm sobrevivido as diferentes eras geológica sob condições ambientais distintas (Feuda *et al.* 2017) e, portanto, são consideradas um grupo de sucesso no reino animal (Galitz *et al.* 2021).

São invertebrados sésseis, que após o seu estabelecimento no substrato consolidado ficam expostos à um conjunto de fatores bióticos que podem prejudicar o seu crescimento, como por exemplo: a predação e competição. Espécies de peixes recifais da família Pomacanthidae (Wulf 2020; Lorders *et al.*, 2018), tartaruga de pente *Eritmochelys imbricata* (Jackson e Newman 2006; Pawlik *et al.* 2018) e ouriços do mar *Eucidaris tribuloides* (Burns *et al.* 2003), por exemplo, são conhecidos por incluírem esponjas em suas dietas. A competição com outros invertebrados também pode afetar o crescimento das esponjas em substratos consolidados como já relatado, por exemplo, pela presença do cnidário *Zoanthus sansibaricus* e da macroalga *Dictyota ciliolata* (Deshpand *et al.* 2021).

Contudo, as esponjas dispõem de estratégias fisiológicas e ecológicas que permitiram a sua perpetuação até os dias atuais, já que minimizam possíveis danos e, assim, auxiliam no aumento de sua sobrevivência (Bell 2008; Wulff 2020). Dentre os mecanismos utilizados por esses organismos estão: o rápido crescimento empregado em processos competitivos com organismos vizinhos no substrato consolidado (Porter e Targett 1988; Aerts e Van Soest 1997; Aerts

1998; Chadwick e Morrow 2011; Wang *et al.* 2012 e Silva *et al.* 2014); o grande potencial regenerativo, capaz de atenuar os danos causados por predadores espongiívoros (Thoms *et al.* 2008; Rohde e Schupp 2012; Borisenko *et al.* 2015) e a produção de metabólitos secundários bioativos que atuam na proteção da esponja, com ação anti-predação e anti-incrustante (Hoppe 1988; Burns *et al.* 2003; Hill *et al.* 2005).

Além disso, fatores abióticos como temperatura, batimento de onda, luz e sedimentação também exercem influência sobre a dinâmica do crescimento das esponjas nos substratos consolidados (Liechter e Witman 1997; Carballo 2006; Mercado-Molina 2009; Batista *et al.* 2020). No entanto, a temperatura da água do mar se destaca como um dos principais fatores ambientais, uma vez que, sua variação pode afetar a fisiologia e morfologia das esponjas marinhas, impedindo assim o seu desenvolvimento e crescimento nesses ecossistemas (Garrabou *et al.* 2009, 2019; Di Camillo *et al.* 2013).

As variações de temperatura da água do mar atuam no crescimento das esponjas de forma indireta, que pode alterar a composição da microbiota, favorecendo o surgimento de organismos patogênicos e reduzindo a viabilidade de nutrientes (Webster *et al.* 2008 a,b; Laffy *et al.* 2019; Idan *et al.* 2020). Segundo Runzel (2016), existe uma temperatura ótima para a atividade celular, pois a variação deste fator pode afetar os organismos que constituem a biota das esponjas a nível celular. Em baixas temperaturas, por exemplo, as moléculas costumam se mover mais lentamente, afetando o movimento das células (Runzel 2016). Por outro lado, em temperaturas mais altas, as proteínas desnaturam e podem não realizar atividades celulares de forma regular (Francis e Barlow 1988; Zwietering *et al.* 1990).

Trabalhos como Barthel (1986), Garrabou e Zabala (2001), De Caralt (2007), Koopmans e Wijffels (2008), Di Camillo (2013), Garrabou (2009) e (2019) destacam a relação positiva entre o crescimento das esponjas e a temperatura da água do mar. Garrabou e Zabala (2001), por exemplo, verificou que mudanças de temperatura durante o ano pode gerar picos sazonais de crescimento para espécie *Crambe crambe* no Mediterrâneo. De Caralt (2008) também observou que o crescimento de *Corticium candelabrum* está relacionado com as estações do ano, já que durante o verão (temperatura $\geq 21^{\circ}\text{C}$) a esponja apresenta crescimento positivo; enquanto se observa um crescimento negativo (taxas de encolhimento) e necrose parcial no outono e inverno (temperatura $< 21^{\circ}\text{C}$).

No Brasil, a Baía do Arraial do Cabo é um local que apresenta variações sazonais de temperatura devido à ação do fenômeno da ressurgência (Calado *et al.* 2020). As variações de temperatura da água do mar durante o ano tornam a região interessante para o desenvolvimento de estudos com organismos marinhos, principalmente esponjas, que são conhecidas como organismos sensíveis a variações ambientais (Bell 2008; Silva 2018). Dentre a fauna esponjosa da região se destaca *Darwinella* sp., uma esponja que pertence a um gênero considerado cosmopolita e que coloniza áreas negativas e grutas dos costões rochosos, podendo ser encontradas desde a zona entre marés até 15 metros de profundidades (Bergquist e Cook 2002; Muricy e Hadju 2006).

O primeiro registro de *Darwinella* reportada para região foi no final da década de 80 (Muricy 1989; Muricy *et al.* 1991), quando a espécie foi observada em apenas dois pontos da Baía de Arraial do Cabo. Atualmente, a esponja é comumente encontrada em diferentes pontos da região cobrindo grandes áreas

dos costões rochosos (observação pessoal). Segundo Ramirez *et al.* (2017), esta esponja apresenta componentes químicos que assemelham da espécie *Darwinella oxeata* Bergquist, 1961, originalmente descrita para Nova Zelândia e, assim, foi recentemente categorizada como uma espécie exótica para o Brasil.

Na literatura atual, poucos trabalhos relatam sobre os aspectos ecológicos da espécie *Darwinella* sp. para região de Arraial do Cabo. Sant' Anna *et al.* (em preparação) observou uma variação no crescimento da esponja em função da temperatura, cujos períodos de encolhimento foram observados quando havia incidência de águas mais frias ($<21^{\circ}\text{C}$), e períodos de crescimento positivo quando a temperatura foi superior a 23°C . Entretanto, o tempo de observação pela autora foi de apenas 60 dias, período relativamente curto quando comparado com outros estudos sobre crescimento.

Desta forma, o presente estudo teve o objetivo geral de verificar se a temperatura influencia positivamente o crescimento da esponja *Darwinella* sp. e avaliar a sua ocorrência após 30 anos do seu primeiro registro para região da Baía de Arraial do Cabo. A hipótese testada neste trabalho é que o crescimento da esponja é influenciado pelo fator temperatura. Para tal, foi acompanhado o crescimento da esponja durante quatorze meses (2019-2020) em duas localidades sujeitas à distintas variações de temperatura. Além disso, 11 costões rochosos distribuídos na baía foram revisitados após 30 anos para o registro de *Darwinella* sp..

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Área de Estudo

A Baía do Arraial do Cabo está situada no município de Arraial do Cabo-RJ, localizado a 160 km a leste da cidade do Rio de Janeiro, no sudeste do Brasil (42°00'W-22°44'S). A baía possui características peculiares, já que possui uma grande área protegida da ação do mar aberto devido à formação irregular da costa e pela presença da Ilha de Cabo Frio e a Ilha dos Porcos (Candella 2009). O regime de ventos de nordeste e leste associado à morfologia da costa, desencadeia um fenômeno conhecido como ressurgência.

A ressurgência consiste no afloramento costeiro da Água Central do Atlântico Sul (ACAS), uma massa de água mais fria, que eleva a produtividade primária local e que pode apresentar temperaturas inferiores a 18°C. Este fenômeno ocorre, predominantemente, de setembro a março (primavera e verão), mas possui grande variabilidade interanual (Calil 2009). O fenômeno inverso ocorre durante o outono e o inverno, o de subsidência, quando se torna mais comum a incidência de ventos sudoeste, proporcionando águas claras e quentes, principalmente, nas áreas abrigadas (Ferreira 2003, Calil 2009). Geralmente, a massa d'água predominante e que fica na superfície (Massa de Água Costeira) tem uma faixa de temperatura que varia de 20°C a 23°C (Candella 1999; Calado *et al.* 2020)

Batista e colaboradores (2017) monitoraram as temperaturas dessa região durante três anos e observaram que na porção interna da baía, que é abrigada, a temperaturas máxima foi de 29°C, enquanto a temperatura mínima foi de 12,5°C. Na porção externa da baía, região sujeita a ação direta deste fenômeno,

a temperatura máxima foi de 29°C, e a mínima registrada alcançou os 11°C (op.cit.).

2.2.2 Pontos de amostragem

- **Acompanhamento do crescimento**

Dois pontos localizados em áreas distintas da Baía de Arraial do Cabo foram selecionados para acompanhar o crescimento da esponja *Darwinella* sp.: Ilha de Cabo Frio (23°00'03''S; 42°00'40''W) e Ilha dos Porcos (22°57'57''S; 41°59'36''W) (**Figura 2.1**). A Ilha de Cabo Frio localiza-se na porção sul da Baía de Arraial do Cabo que possui entrada de águas frias da ressurgência esporadicamente, e a Ilha dos Porcos, na porção norte da baía e que apresenta menor presença da ressurgência.

- **Ocorrência da esponja *Darwinella* sp.**

Adicionalmente, foram reavaliados os mesmos 11 pontos visitados há 30 anos por Muricy *et al.* (1991), para o registro da ocorrência de *Darwinella* sp., sendo eles: 1-Ilha de Cabo Frio, 2- Saco do Gato, 3- Praia dos Anjos, 4- Porto, 5- Fortaleza, 6- Forno, 7- Ilha dos Porcos, 8- Saco dos Cardeiros, 9- Saco do Anequim, 10 –Pedra Vermelha, 11- Maramutá. (**Figura 2.1**).

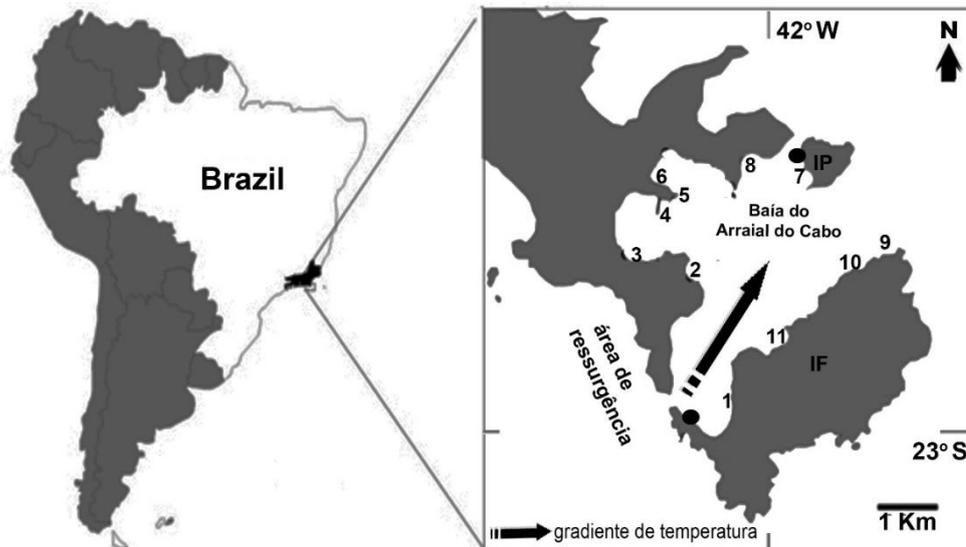


Figura 2.1 Mapa de localização do município e dos pontos estudados na Baía do Arraial do Cabo (42°00'W-22°44'S), sendo: 1-Ilha de Cabo Frio, 2- Saco do Gato, 3- Praia dos Anjos, 4- Porto, 5- Fortaleza, 6- Forno, 7- Ilha dos Porcos, 8- Saco dos Cardeiros, 9- Saco do Anequim, 10 –Pedra Vermelha, 11- Maramutá. Os pontos de acompanhamento do crescimento da esponja *Darwinella* sp. na Ilha dos Porcos (IP; área norte) e Ilha do Cabo Frio (IF; área sul) estão destacados com círculo preto.

2.2.3 Avaliação do crescimento da esponja da esponja *Darwinella* sp.

As amostragens foram realizadas através de mergulho autônomo (SCUBA). Um total de 15 espécimes da esponja *Darwinella* sp. foi selecionado em cada localidade, numa profundidade de 8 metros. Nas duas localidades, o acompanhamento do crescimento da esponja foi realizado em costões rochosos com características ambientais similares, em relação a profundidade, batimento de onda e grau de inclinação dos substratos, afim de minimizar os possíveis efeitos desses fatores no crescimento da esponja.

Quadrados de 30 cm x 30 cm foram raspados ao redor dos espécimes de esponja no costão, de modo que naquele espaço permanecessem somente a esponja alvo deste estudo. Além disso, devido à grande dificuldade em encontrar indivíduos com mesma área, os espécimes selecionados foram previamente raspados de modo que ao final apresentassem um tamanho de

aproximadamente 10 cm de diâmetro. Esta estratégia foi escolhida a fim de evitar grandes variações e *outliers* que pudesse interferir no resultado final. A raspagem foi realizada três meses antes do início da avaliação de crescimento, para garantir a total regeneração do tecido (**Figura 2.2**) (Turon 1998; Henry e Hart 2005; Ereskovsky *et al.* 2021).

As áreas adjacentes do costão rochoso foram etiquetadas e as esponjas fotografadas mensalmente com uma câmera digital Canon G12 com caixa estanque, na qual foi acoplado um frame de aço inox de 20 x 20 cm à distância focal de 30 cm. O acompanhamento das esponjas foi realizado entre abril de 2019 e maio de 2020 (**Figura 2.2**). A temperatura da água foi monitorada por sensores Thermochron® iButtons® a cada uma hora, durante mesmo período, a fim de verificar as possíveis influências da temperatura sobre o crescimento das esponjas.

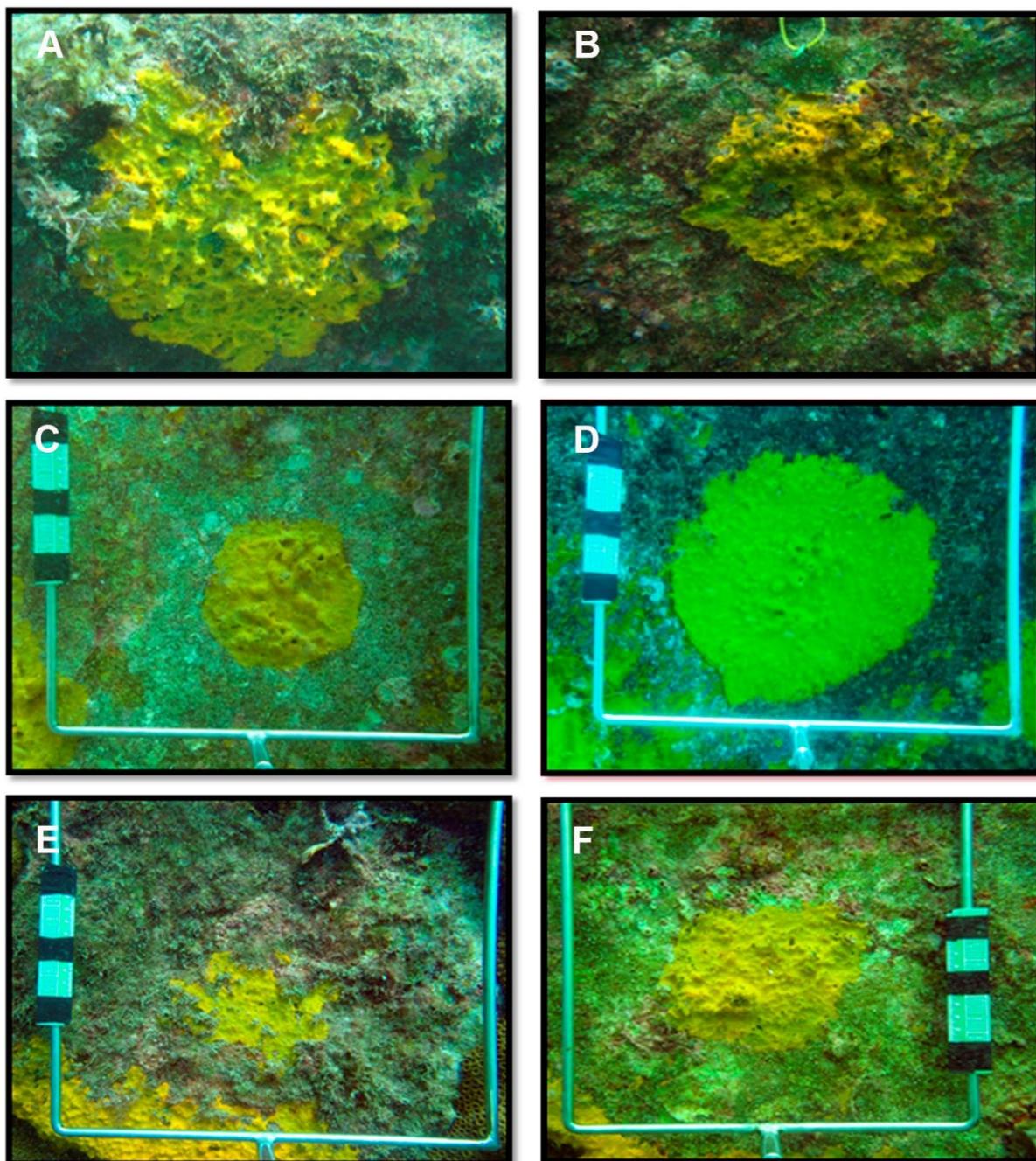


Figura 2.2 Em (A) *Darwinella* sp. antes da raspagem no substrato consolidado (fevereiro de 2019); em (B) espécime da esponja após a raspagem. Em (C) *Darwinella* sp. no início do monitoramento do crescimento em abril de 2019, e em (D) espécime da esponja no final do monitoramento em junho de 2020 na Ilha dos Porcos. Em (E) *Darwinella* sp. no início do monitoramento do crescimento em abril de 2019, e em (F) espécime da esponja no final do monitoramento em junho de 2020 na Ilha de Cabo Frio.

2.2.4 Ocorrência de *Darwinella* sp. na Baía do Arraial do Cabo

O registro de ocorrência da esponja *Darwinella* sp. foi avaliada, visualmente, através de mergulho autônomo, entre novembro de 2021 e janeiro de 2022. Em cada localidade (11 pontos), os mergulhadores nadaram em paralelo ao costão por um período de 20 minutos, na profundidade de 6 metros. Com um auxílio de uma prancheta foram feitos registros de presença ou ausência da espécie e a contagem do número de indivíduos avistados durante o mergulho em cada ponto.

2.2.5 Taxa de Crescimento

O tamanho das áreas (cm²) das esponjas avaliadas mensalmente foram mensuradas através do programa *Image J* (**Figura 2.3**). A quantificação da taxa de crescimento ao longo do tempo foi baseada no estudo de Tanaka *et al.* (2002) que utilizou a fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento (\%)} = \frac{100 \times A_{t+1} - A_t}{A_t}$$

Onde A_{t+1} e A_t são área no tempo inicial e no mês seguinte, respectivamente.

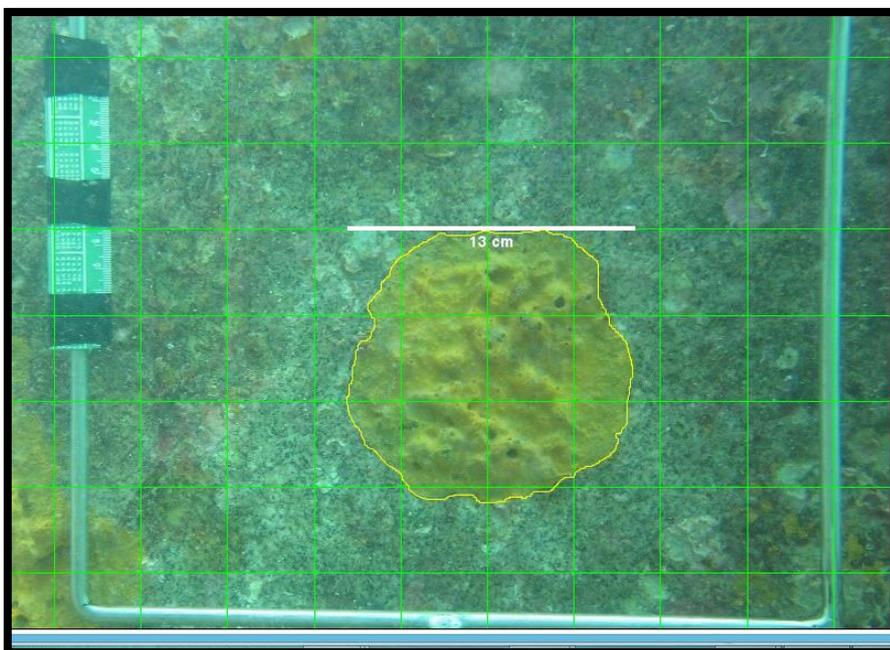


Figura 2.3 Exemplo de uma imagem usada para estimativa da área do espécime da esponja *Darwinella* sp., no programa *Image J*.

2.3 ANÁLISES DOS DADOS

Todas as análises estatísticas abaixo foram realizadas no programa Statistica10.0. O nível de significância estabelecido foi $\alpha = 0,05$.

2.3.1 Análise de variância (ANOVA)

As premissas da normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, foram testadas através dos testes Shapiro-Wilk e Cochran, respectivamente. A ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para avaliar se o crescimento médio da esponja *Darwinella* sp. difere significativamente entre as Ilha de Cabo Frio (CF) e Ilha dos Porcos (IP), ao longo do período do estudo. Devido ao alto grau de variação do tamanho das esponjas, os dados de crescimento obtidos foram transformados em porcentagem. O teste a posteriori de *LSD Fisher* foi utilizado para verificar em quais grupos houveram diferenças significativas ($p < 0,05$).

2.3.2 Teste *T Student*

O teste *T Student* foi utilizado para comparar a temperatura média da água do mar entre os pontos Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos.

2.3.3 Correlação de *Pearson*

O coeficiente de *Pearson* foi utilizado para avaliar a correlação entre a temperatura da água do mar e o crescimento de *Darwinella* sp. nos pontos de estudo (Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos). O coeficiente pode ter intervalo de +1 a -1, onde o valor zero indica que não há associação entre as duas variáveis,

enquanto que um valor >0 indica associação positiva e <0 indica associação negativa.

2.4 RESULTADOS

2.4.1 Temperatura

As temperaturas médias da água variaram de forma semelhante nas duas áreas durante todo o período monitorado (**Figura 2.4**). A temperatura máxima registrada foi em abril de 2019, sendo de $27,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ na Ilha dos Porcos e $27,2^{\circ}\text{C}$ na Ilha de Cabo Frio. Já a menor temperatura foi de $16,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ na Ilha dos Porcos (fevereiro de 2020) e $13,1^{\circ}\text{C}$ na Ilha de Cabo Frio (dezembro de 2020) (**Tabela 2.1**).

A temperatura média não diferiu significativamente entre a Ilha dos Porcos e Ilha de Cabo Frio (*t Student* $p=0,84$). No entanto, a frequência das temperaturas abaixo de 18°C , ao longo dos 14 meses, foi superior na Ilha de Cabo Frio quando comparada à Ilha dos Porcos. Por exemplo, em dezembro de 2019, a Ilha de Cabo Frio apresentou quase 10 vezes mais registros de temperaturas inferiores a 18°C (410 registros\mês), enquanto que a Ilha dos Porcos apresentou 50 registros\mês (**Tabela 2.1**). Na Ilha de Cabo Frio, foram registradas temperaturas inferiores a 18°C em 11 dos 14 meses de estudo. Já na Ilha dos Porcos, foram registradas temperaturas menores que 18°C em sete meses (em julho, setembro e dezembro de 2019 e de janeiro a abril de 2020). Além disso, foi possível observar que a amplitude térmica mensal foi superior na Ilha de Cabo Frio quando comparada à Ilha dos Porcos (**Tabela 2.1**).

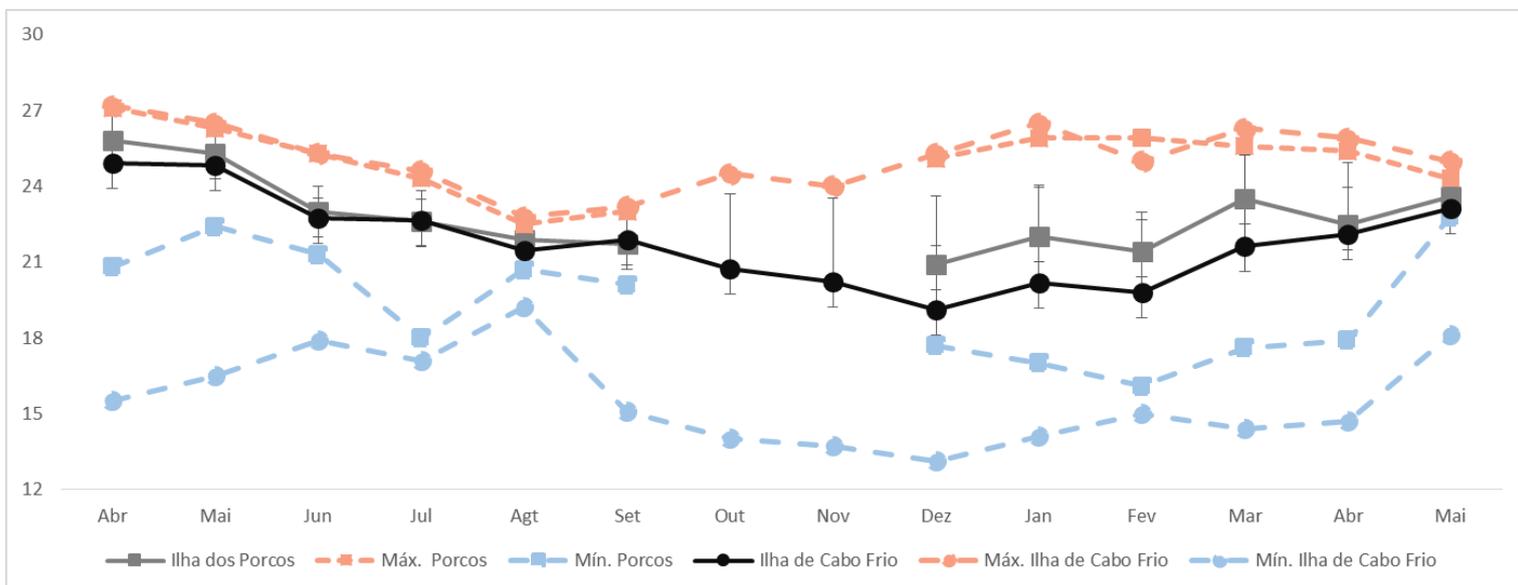


Figura 2.4 Temperatura média, máxima e mínima (°C) registrada para Ilha dos Porcos e Ilha de Cabo Frio, entre abril de 2019 e maio de 2020. Barra= Desvio padrão. Linhas pontilhadas em azul com marcador em círculo representa as temperaturas mínimas na Ilha de Cabo Frio, e com marcador quadrado representa a temperatura mínima na Ilha dos Porcos. As linhas contínuas em rosa com marcador em círculo representam a temperatura máxima na Ilha de Cabo Frio, e com marcador quadrado representa a temperatura máxima na Ilha dos Porcos. As linhas contínuas em preto e cinza representam a média mensal de temperatura na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos, respectivamente.

Tabela 2.1 Temperaturas (°C) máximas (máx.) e mínimas (min.) registradas na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos no período de abril de 2019 a maio de 2020, medida de hora em hora, em cada estação estudada. Frequência de ocorrência da temperatura menor que 18°C, caracterizando a influência da ressurgência (ACAS) neste período.

Ilha dos Porcos	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago	Set.	Out.	Nov	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.
Temperatura min.	20,8	22,4	21,3	18,0	20,7	20,1	---	---	17,7	17,0	16,1	17,6	17,9	22,8
Temperatura máx.	27,1	26,3	25,3	24,3	22,5	23,0	---	---	25,1	25,9	25,9	25,6	25,4	24,3
Frequência de Temperaturas <18°C	---	---	---	10	---	18	---	---	50	70	42	21	19	---

Ilha de Cabo Frio	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago	Set.	Out.	Nov	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.
Temperatura min.	15,5	16,5	17,9	17,1	19,2	15,1	14,0	13,7	13,1	14,1	15,0	14,4	14,7	18,1
Temperatura máx.	27,2	26,5	25,3	24,6	22,8	23,2	24,5	24,0	25,3	26,5	25,0	26,3	25,9	25,0
Frequência de ocorrência de temperaturas <18°C	36	11	7	21	---	18	165	244	410	347	106	144	110	13

2.4.2 Taxa de crescimento de *Darwinella* sp.

Os crescimentos dos indivíduos oscilaram similarmente ao longo de todo o período do estudo, nos dois pontos analisados (**Figura 2.5**). Em abril e maio de 2019, foram registradas as maiores taxas de crescimento para as esponjas presentes nas ilhas de Cabo Frio e dos Porcos (>4% e >7%, respectivamente). Em junho de 2019, foi registrado o maior encolhimento no tamanho da esponja durante todo o período de monitoramento, em ambos os pontos (-11% para Ilha de Cabo Frio e -6% na Ilha dos Porcos, respectivamente). Nos meses seguintes, de julho a setembro de 2019, observou-se uma variação no crescimento de *Darwinella* sp., enquanto a área da esponja se manteve praticamente constante até dezembro de 2019, nos dois pontos. Entretanto, a partir de janeiro de 2020, verificou-se novamente uma oscilação do crescimento, alternando entre aumento e redução do tamanho da esponja. Ao final do período de estudo, o crescimento médio anual da esponja *Darwinella* sp. foi equivalente a 62% para Ilha de Cabo Frio e 67% na Ilha dos Porcos.

Foram observadas diferenças significativas na interação dos fatores crescimento e tempo, ao longo do período de monitoramento (ANOVA $F_{13,364}=4,75$ $p < 0,01$). O crescimento de *Darwinella* sp. foi significativamente diferente entre os períodos de junho a setembro de 2019, quando comparado ao período de fevereiro a maio de 2020, nas duas áreas estudadas (*a posteriori* LSD Fisher; $p < 0,05$) (**ver tabela 2.2**). Também foram observadas diferenças significativas no crescimento ao longo do tempo, e entre os pontos de estudo (Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos) ($p < 0,001$), quando analisados de forma isolada.

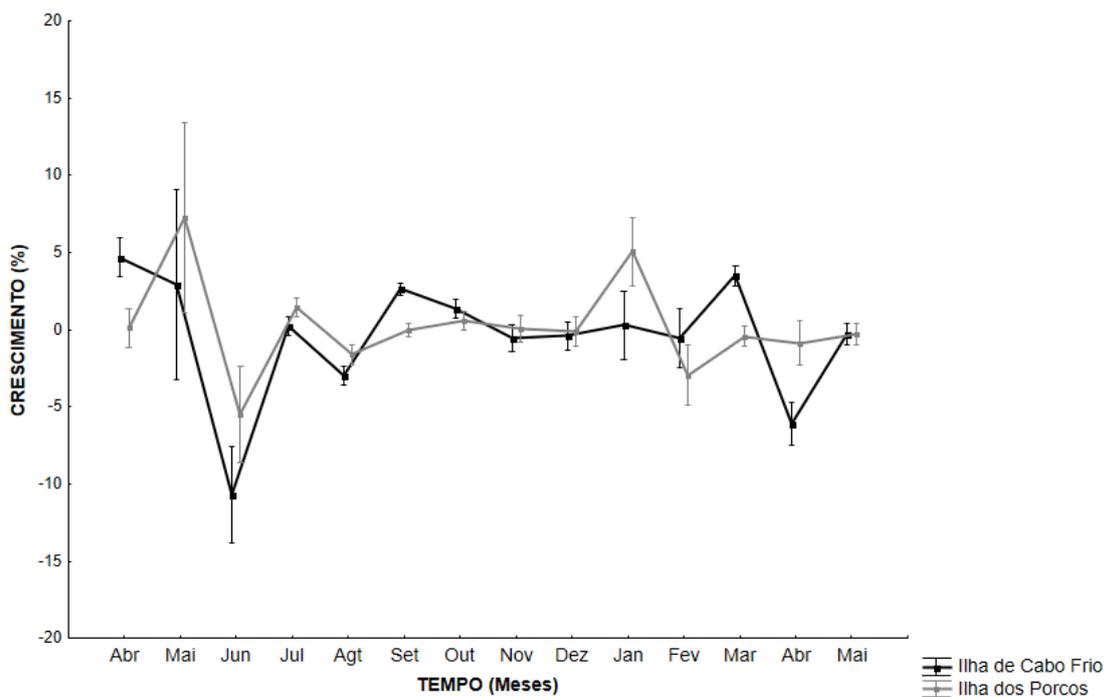


Figura 2.5. Crescimento (%) da esponja *Darwinella* sp. na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo, RJ, ao longo de 14 meses de estudo (de abril de 2019 a maio de 2020). As medições foram feitas mensalmente. Barra= Desvio padrão.

Tabela 2.2 ANOVA para medidas repetidas do crescimento de *Darwinella* sp. na Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos, do período de abril de 2019 a maio de 2020.

		G.L	F	p
Porcos e Cabo Frio		1	26,93	< 0,001*
<i>Darwinella</i> sp.	Tempo	13	17,18	< 0,001*
	Tempo* Porcos e Cabo Frio	13	4,75	< 0,001*

2.4.3 Variação do crescimento da esponja *Darwinella* sp. em função da temperatura na Ilha dos Porcos.

O gráfico abaixo mostra a variação do crescimento da esponja *Darwinella* sp. em função da variação da temperatura da água na Ilha dos Porcos ao longo dos 14 meses de monitoramento (**Figura 2.6**). A correlação entre o crescimento e a temperatura média, mínima e máxima não foram significativas para Ilhas dos Porcos ($p > 0,05$; média: $r = 0,33$; mínima: $r = 0,28$; máxima: $r = 0,25$). No entanto, foi possível observar algumas tendências de crescimento da espécie com a variação da temperatura em parte do período do estudo.

Nos meses de maio e junho de 2019 foi observado uma redução do tamanho da esponja (de 7% para -5%), concomitantemente também houve uma queda nas temperaturas (média de 25% para 23%). Já de dezembro a janeiro de 2020 foi observado um aumento no tamanho da esponja (5%), neste mesmo período a temperatura máxima e mínima alcançou os 25°C e 17°C, respectivamente. Posteriormente, em fevereiro, houve uma redução de -2% do tamanho da esponja, essa redução do crescimento foi seguida por uma queda na temperatura, que atingiu a mínima de 16°C. Em seguida, nos meses de março e abril, o crescimento da esponja reduziu (-0,45% e -0,86%) mesmo com as médias de temperatura acima dos 21°C. No entanto, foi possível observar que neste mesmo período as temperaturas mínimas ficaram abaixo dos 18°C.

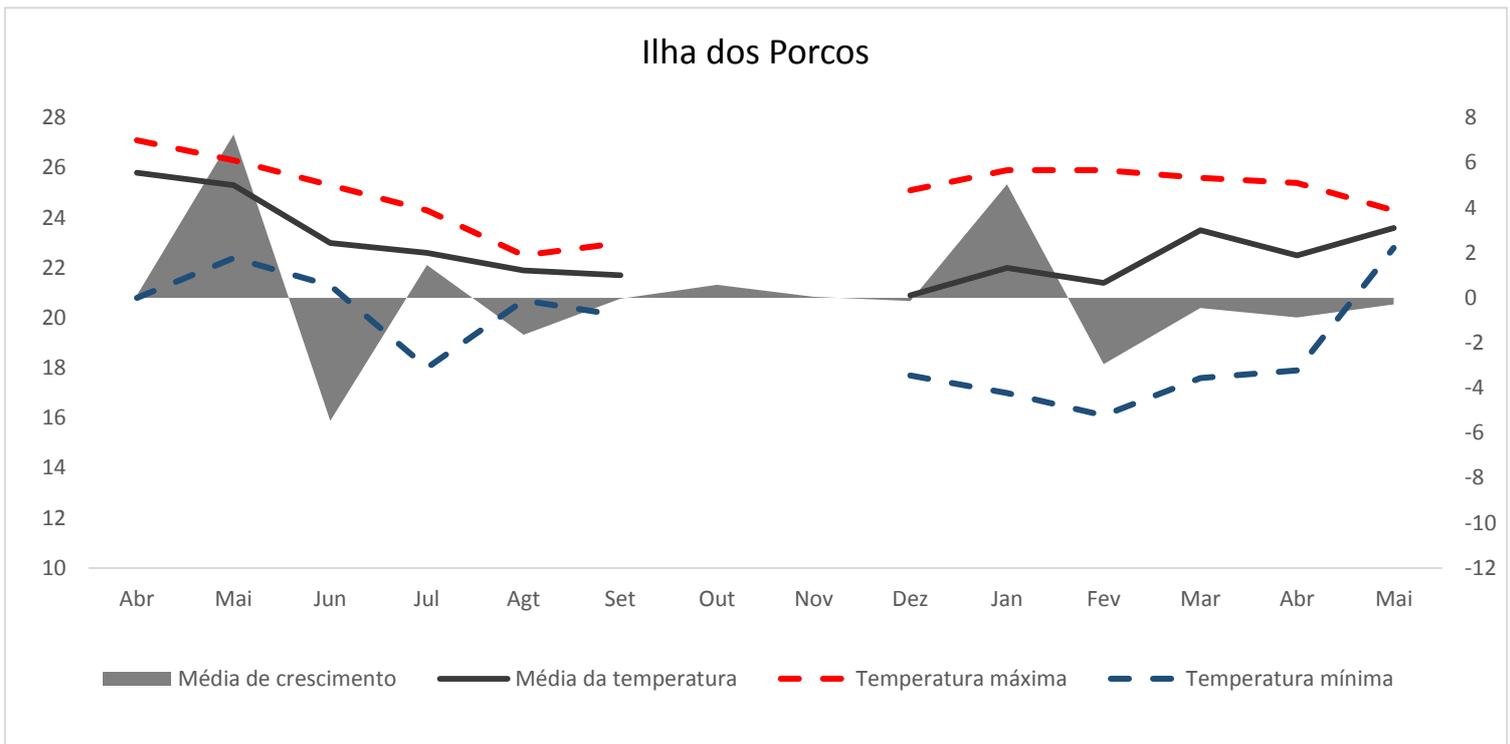


Figura 2.6. Crescimento de *Darwinella* sp. em relação a temperatura média mensal, máxima e mínima (°C) na Ilha dos Porcos, Arraial do Cabo. O eixo y à esquerda representa os valores da temperatura (média, mínima e máxima), e à direita do eixo y, a proporção de crescimento da espécie ao longo do tempo. As linhas pontilhadas representam os valores de temperatura máxima e mínima e a linha contínua refere-se a média mensal de temperatura no ponto amostrado. O eixo x representa às taxas de crescimento da esponja entre abril de 2019 e junho de 2020.

2.4.4 Variação do crescimento da esponja *Darwinella* sp. em função da temperatura na Ilha de Cabo Frio.

Não foi observada uma correlação positiva entre o crescimento da esponja *Darwinella* sp. e a variação da temperatura da água do mar (média, mínima e máxima) na Ilha de Cabo Frio ($p > 0,05$; média: $r = 0,40$; mínima: $r = 0,47$; máxima: $r = 0,38$) (**Figura 2.7**). Mas assim como na Ilha dos Porcos, foi observado uma tendência de crescimento da espécie relacionada com a variação da temperatura. Por exemplo, nos meses de maio e junho de 2019 a esponja apresentou uma redução do seu crescimento de 2% para -10%, durante este período foi observado que a temperatura média e máxima reduziu aproximadamente em 1°C (24°C para 22°C e 26 °C para 25°C, respectivamente),

e a temperatura mínima alcançou os 17°C. Posteriormente, de setembro a dezembro de 2020 o crescimento variou de 2% a -0,42%, concomitantemente, neste período também foram registradas as menores temperaturas da água do mar, onde a média e mínima oscilou de 21°C para 19°C e de 15°C para 13°C, respectivamente. Em contrapartida, a temperatura máxima variou de 23°C para 25°C neste período. De fevereiro a março foi observada um aumento no crescimento (-0,55% para 3%), correspondendo a períodos anteriores de temperatura superior a 21°C (média e máxima). Em seguida, em abril, a esponja teve o tamanho reduzido (-6%) mesmo com as médias de temperatura acima dos 21°C. No entanto, foi possível observar que neste mesmo período as temperaturas mínimas ficaram abaixo dos 15°C.

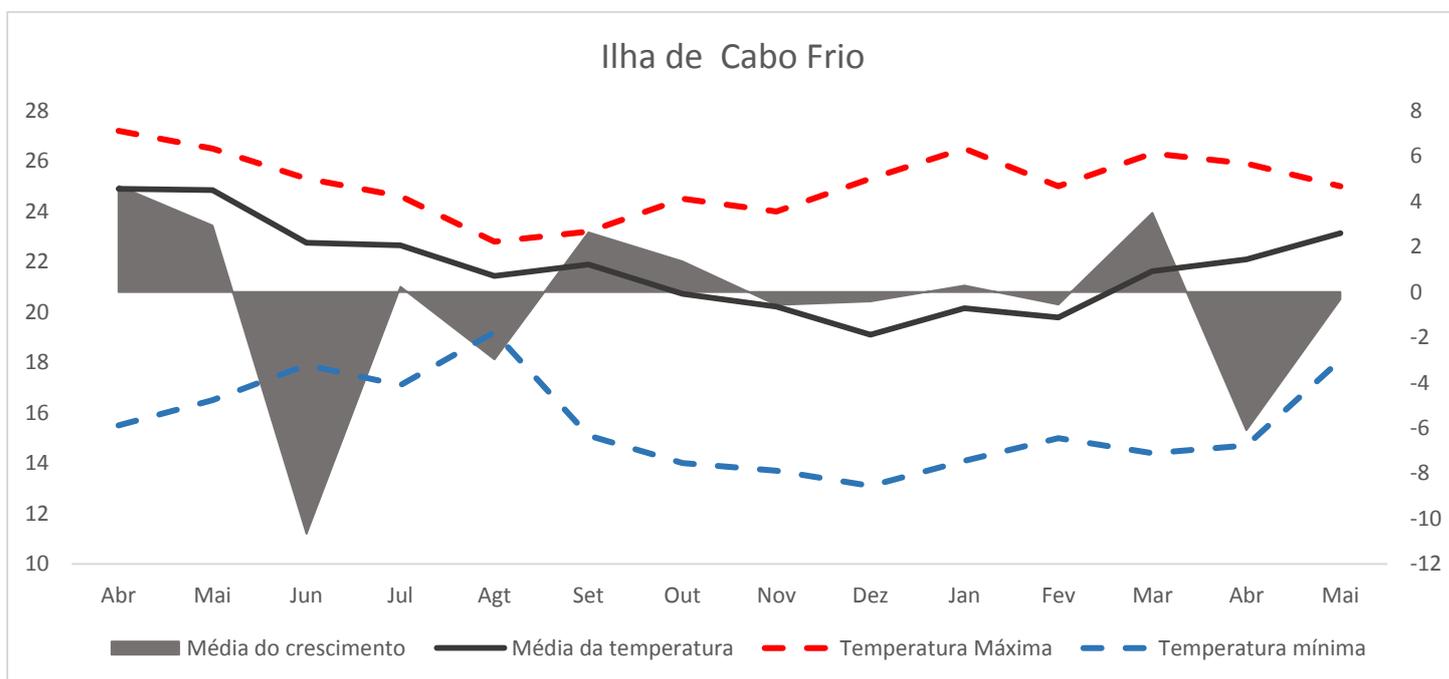


Figura 2.7 Crescimento de *Darwinella* sp. em relação a temperatura média mensal, máxima e mínima (°C) na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo. O eixo y à esquerda representa os valores da temperatura (média, mínima e máxima), e à direita do eixo y, a proporção de crescimento da espécie ao longo do tempo. As linhas pontilhadas representam os valores de temperatura máxima e mínima e a linha contínua refere-se a média mensal de temperatura no ponto amostrado. O eixo x representa às taxas de crescimento da esponja entre abril de 2019 e junho de 2020.

2.4.5 Ocorrência de *Darwinella* sp.

A presença da esponja *Darwinella* sp. foi detectada em todos os 11 pontos de estudo da Baía de Arraial do Cabo (**Tabela 2.3**). Dentre os locais observados, a Ilha dos Porcos apresentou o maior número de indivíduos (N=30). Em contrapartida, o Porto registrou a presença do menor número de indivíduos (N=3).

Tabela 2.3. Ocorrência (X) e Ausência (0) de *Darwinella* sp. e o número de indivíduos da esponja observados ao longo de cada mergulho realizado nos 11 pontos da Baía Arraial do Cabo, entre novembro de 2021 e fevereiro de 2022. O (X) indica os locais onde a presença da esponja foi registrada.

Pontos	Ocorrência	Nº de indivíduos
Ilha dos Porcos	X	30
Saco dos Cardeiros	X	28
Saco do Anequim	X	25
Pedra Vermelha*	X	18
Forno*	X	15
Praia dos Anjos	X	11
Maramutá	X	13
Ilha de Cabo Frio	X	12
Fortaleza	X	8
Saco do Gato	X	8
Porto	X	3

*pontos com registro de *Darwinella* sp. há 30 anos atrás (Muricy *et al.*, 1991).

2.5 DISCUSSÃO

No presente estudo, percebe-se que a dinâmica oceanográfica na Baía do Arraial do Cabo faz com que tenhamos uma diferença na temperatura da água do mar, numa pequena escala de distância. Apesar das temperaturas máximas e mínimas não apresentarem diferenças significativas entre os pontos de amostragem, foi possível observar que a presença de temperaturas inferiores a 18°C foram mais frequentes na Ilha de Cabo Frio quando comparada a Ilha dos Porcos.

As diferenças na frequência das temperaturas mínimas (<18°C) encontradas entre os dois pontos estão relacionadas as suas localizações dentro da área do estudo. De acordo com Calado *et al.* (2020), o fenômeno da ressurgência, desencadeado pelo regime de ventos na região, ocorre com maior intensidade próximo à Ilha de Cabo Frio e pode reduzir a temperatura da água (<18° C) em determinadas regiões. Devido a sua localização, próxima a entrada da baía, no eixo Boqueirão-Ponta Leste, a Ilha de Cabo Frio fica mais sujeita a uma intensa circulação de águas. Quando regime de ventos Sudoeste é predominante na região, as águas de subsidência (> a 18°C) entram pelo Boqueirão em direção à Ponta Leste (←). Se o vento Nordeste é predominante, o sentido desta circulação se inverte em direção ao Boqueirão (→). E são estes ventos Nordeste que são predominantes na região e essenciais para a ocorrência da ressurgência quando, no geral, as temperaturas próximas a entrada da baía podem atingir a mínima de 11°C (Batista *et al.* 2016). Já a Ilha dos Porcos, situa se mais ao norte da baía e apresenta uma baixa hidrodinâmica, ficando menos sujeita às grandes variações de temperatura (Calado *et al.* 2020).

A temperatura no ambiente marinho é um dos principais fatores que influência no crescimento dos invertebrados marinhos (Brusca *et al.* 2019). Apesar disso, não foi observada uma correlação positiva entre a temperatura da água do mar (média, máxima e mínima) e o crescimento da esponja *Darwinella* sp. nos dois pontos amostrados. Entretanto, embora não tenha sido observada uma correlação significativa entre tais variáveis, os dados mostram que o crescimento de *Darwinella* sp. acompanhou a oscilação da temperatura em alguns períodos do monitoramento.

Inúmeros trabalhos correlacionam positivamente o crescimento de esponjas com a temperatura da água (Barthel 1986; Garrabou e Zabala 2001; Page 2005; McMurray *et al.* 2008; Garrabou, 2009; 2019; Leong e Pawlik 2010; Duckworth e Wolff 2011; Di Camillo 2013). De Caralt (2008), por exemplo, observou que em períodos onde a temperatura da água estava mais elevada (21°C), a esponja do Mediterrâneo *Corticium candelabrum* apresentou crescimento positivo. O oposto ocorreu durante a influência de águas mais frias (<21°C), onde a esponja apresentou crescimento negativo (taxas de encolhimento). Resultados semelhantes ao do presente estudo também foram encontrados por Tanaka (2002), para a esponja incrustante *Halichondria okadai* em Oura Bay, no sul do Japão. O trabalho destacou, que apesar não existir uma correlação positiva entre os fatores crescimento e temperatura em alguns pontos do estudo, foi possível observar que houve uma tendência de crescimento nos meses mais quentes, entre a primavera e verão (temperatura variando entre 22-25°C). Já a redução do crescimento foi observada nos meses mais frios, durante inverno (temperatura inferior a 20°C) (op.cit.).

Segundo Leong e Pawlik (2010), a disponibilidade de alimentos também é um dos fatores cruciais que influenciam no crescimento das esponjas. Geralmente, as maiores taxas de crescimento ocorrem em meses onde produtividade primária é mais elevada e há maior oferta de alimentos (Elvin 1976, Duckworth *et al.* 2004, McMurray *et al.* 2008; Lana e Oliveira 2022). Assim, embora a influência da ressurgência reduza a temperatura da água do mar, este fenômeno traz consigo um elevado *input* de nutrientes e que acarreta, conseqüentemente, numa elevada produtividade primária (Valentin *et al.* 1987; Guimaraes e Coutinho, 1996; Candella, 2009; Calado *et al.* 2020). Deste modo,

o aumento da produtividade primária ocasionada pela influência da ressurgência, pode ter contribuído para o crescimento de *Darwinella* sp., mesmo nas épocas de águas frias. Tal fato pode explicar os períodos de aumento do crescimento mesmo nos meses em que as médias de temperaturas estavam $<21^{\circ}\text{C}$. Por outro lado, houve um período (abril de 2020) em que percebe-se redução do crescimento da esponja mesmo com a temperatura média da água do mar acima de 21°C . Desta forma, provavelmente existem outros fatores ambientais que agem em sinergismo e que afetam o crescimento da esponja.

Outros fatores não abordados no presente estudo também podem exercer influência sobre o crescimento da esponja nos dois pontos de monitoramento, como por exemplo: competição (Hoppe 1988; De Caralt *et al.* 2013; Olinger *et al.* 2021) e predação (Wulff 2012; Wulff 2020). A diferença de crescimento observada entre a Ilha dos Porcos e a Ilha de Cabo Frio pode ser resultado da interação competitiva da esponja *Darwinella* sp. com outros organismos do substrato consolidado ou mesmo uma resposta a ação de predadores. Hill (1998) destaca que estratégias de defesa e crescimento podem representar alternativas para esponjas que lidam com pastoreio e/ou predação. Além disso, em ambientes altamente dinâmicos, o crescimento é um recurso para evitar a perda do espaço já ocupado (Ayling 1983; McMurray *et al.* 2015).

Outra possível hipótese para explicar a diferença de crescimento observada pode estar relacionada com alocação de recursos para defesa (Leong e Pawlik 2010; 2011). Conforme os resultados encontrados no capítulo 3 deste estudo, a produção de substâncias químicas (metabólitos secundários) pode variar de acordo com a interação competitiva da esponja *Darwinella* sp. no substrato consolidado, de modo que, o potencial de resposta química produzida é

influenciado diretamente pela identidade do seu organismo vizinho. Dessa maneira, a variação de investimento metabólico em recursos de defesa para *Darwinella* sp., diante dos diferentes organismos presentes na comunidade bentônica, possivelmente pode refletir numa variação intrapopulacional nas taxas de crescimento. Assim, os processos de alocação de energia para defesa química podem estar influenciando as mudanças temporais na taxa de crescimento de *Darwinella* sp., como verificado para outras espécies (Leong e Pawlik 2010; 2011).

O primeiro registro para esponja *Darwinella* sp. em Arraial do Cabo foi em 1991 (Muricy *et al.* 1991), quando a sua presença foi constatada dois pontos da baía, na Pedra Vermelha e no Forno. Atualmente, 30 anos depois, foi possível observar uma mudança de cenário, onde esta espécie encontra se distribuída em todas as áreas da baía e pode cobrir até 1m² da superfície dos costões rochosos (observação pessoal). De forma geral, foi possível observar que a distribuição da esponja *Darwinella* sp. ao longo dos costões rochosos ocorre de forma unidirecional (norte – sul). A área ao norte da baía, onde encontra se a Ilha dos Porcos, Saco dos Cardeiros e Saco do Anequim abrigam o maior número de indivíduos da esponja *Darwinella* sp.; enquanto que nas áreas centrais e mais ao sul esse número é reduzido. Resultado semelhante foi encontrado por Batista e colaboradores (2017), para a distribuição do coral *T. coccinea* dentro da Baía do Arraial do Cabo, que sugerem a temperatura como fator limitante.

A expansão da esponja *Darwinella* sp. em Arraial do Cabo nas últimas décadas sugere que esta espécie seja mais tolerante a condições adversas do ambiente, visto que, observa-se uma redução na cobertura dos poríferos em

Arraial do Cabo. Esponjas que eram abundantes na região, como por exemplo, *Amphimedon viridis*, *Mycale microsigmatosa* e *Arenosclera brasiliensis* (Muricy *et al.* 1991), atualmente, são raramente observadas. Sabe-se que as esponjas são animais muito sensíveis as variações ambientais e, nos últimos anos, Arraial do Cabo vem sofrendo transformações devido à pressão antrópica (Soledad *et al.*, 2020). Por exemplo, o número de embarcações (turismo e pesca) na região aumentou expressivamente, ocasionando um aumento do impacto sobre os costões em função do revolvimento de sedimento e que pode soterrar as esponjas (Moraes *et al.* 2012; Mendonça *et al.* 2013; Silva 2018). Em vista disso, é possível sugerir que a esponja *Darwinella* sp. presente na região de Arraial do Cabo seja uma espécie resistente aos impactos antropogênicos locais, quando comparadas com outras espécies de esponjas da região.

Dessa maneira, o presente trabalho contribuiu no entendimento sobre a dinâmica de crescimento da esponja *Darwinella* sp. em razão do fator abiótico temperatura. Além disso, foi possível elucidar sua atual ocorrência nos costões rochosos da Baía de Arraial do Cabo. Como perspectivas futuras, estudos considerando outros fatores ambientais, tais como: competição, predação, disponibilidade de recursos, entre outros, se faz necessário para maior compreensão dos padrões de crescimento, ocorrência e distribuição da esponja *Darwinella* sp.

2.6 CONCLUSÃO

- A temperatura da água do mar não exerce influência sobre o crescimento da esponja *Darwinella* sp. em nenhuma das áreas (Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos) estudados para Baía do Arraial do Cabo.
- A diferença de crescimento observada entre as duas regiões (Ilha de Cabo Frio e Ilha dos Porcos) possivelmente pode estar relacionada ao sinergismo de outros fatores bióticos ou abióticos não abordados neste estudo.

2.7 REFERÊNCIAS

ABDO, D.A.; MOTTI, C.A.; BATTERSHILL, C.N.; HARVEY, E.S. Temperature and spatiotemporal variability of salicylhalamide A in the sponge *Haliclona* sp. **Journal Chemical Ecology**, v. 33, p. 1635–164, 2007.

AERTS, L.A.M.; VAN SOEST, R.W.M. Quantification of sponge/coral interactions in a physically stressed reef community, NE Colombia. **Marine Ecology Progress Series**, v. 148, p. 125-134, 1997.

Antcliffe, J.B.; Callow, R.H.T.; Brasier, M.D. Giving the early fossil record of sponges a squeeze. **Biological Reviews**, 2014.

ARNOLD, S.N.; STENECK, R.; MUMBY, P.J. Running the gauntlet: inhibitory effects of algal turfs on the processes of coral recruitment. **Marine Ecology Progress Series**, v. 414- 91, 2010.

AYLING, A. L. Growth and regeneration rates in thinly encrusting Demospongiae from temperate waters. **Biology Bulletin**, v.165, p. 343-352, 1983.

BARTHEL, D. On the ecophysiology of the sponge *Halichondria panacea* in Kiel Bight. I. Substrate specificity, growth and reproduction. **Marine Ecology Progress Series**, v. 32, p. 291-298, 1986.

BATISTA, D.; GONÇALVES, J. E.A.; MESSANO, H.F.; ALTVATER, L.; CANDELLA, R.; CALIL, L. M.; MESSANO, L.V.R.; APOLINÁRIO, M.; COUTINHO, R. 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, nº 1, p. 23–32, 2017.

BATISTA, D.; MORAES, F.; PADUA, A.; KLAUTAU, M.; MURICY, GUILHERME. Capítulo 5. Esponjas marinhas (Porifera). In: Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo: Histórico, Ecologia e Conservação. Arraial do Cabo: **Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira**, p. 126-153, 2020.

BELL, J.J. The functional roles of marine sponges. **Estuarine Coastal Shelf Science**, v. 79, p. 341–353, 2008.

BELL, J.J.I, Bennett, H. M.; Rovellini, A.; Webster, N.S. Sponges to Be Winners under Near-Future Climate Scenarios. **BioScience**, v. 68, nº 12, p.955–968, v. 12, 2018.

BERGQUIST, P. R.; COOK, S. DE C. Family Darwinellidae. In: HOOPER, J. N. A.; VAN SOEST, R. W. M. (Eds). **Systema Porifera**: A guide to the supraspecific classification of the phylum Porifera. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 1068-1069, 2002b.

BRUSCA, R.C.; MOORE, W.; SHUSTER, S.M. Invertebrados. 3ª edição. **Editora Guanabara-Koogan**, Rio de Janeiro, 1010, 2018.

CALADO, L.; SOUTELINO R.G.; CANABARRO, D.; GONZALEZ RODRIGUEZ, E. Capítulo 1. 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.: 16-47.

CALIL, L.M.E. Variabilidade interanual da ressurgência de Cabo Frio –RJ. 110f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Oceânica). – Instituto Alberto Luiz Coimbra (COPPE), **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2009.

CANDELLA, R.N. Meteorologically induced strong seiches observed at Arraial do Cabo, RJ, Brazil. **Physical chemical e earth sciences**, v. 34, p. 989-997, 2009.

CARBALO J.L. Effect of natural sedimentation on the structure of tropical rocky sponge assemblages. **Ecoscience**, v. 13, p. 119–130, 2006.

CÁRDENAS, P.; PÉREZ, T.;BOURY-ESNAULT, N. Chapter two - Sponge Systematics Facing New Challenges. **Advances in Marine Biology**, v. 61, p. 79-209, 2012.

DE CARALT, S.; BRY, D.; BONTEMPS, N., TURON, X.; URIZ, M.J.; BANAIG, B. Sources of Secondary Metabolite Variation in *Dysidea avara* (Porifera:

Demospongiae): The Importance of Having Good Neighbors. **Marine Drugs**, v. 11, p. 489-503, 2013.

DE CARALT, S.; URIZ, M. J.; WIJFFELS, R. H. Grazing, differential size-class dynamics and survival of the Mediterranean sponge *Corticium candelabrum*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 360, p. 97–106, 2008.

DE PAULA, A.F. Biologia reprodutiva, crescimento e competição dos corais invasores *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* (Scleractinia: Dendrophylliidae) com espécies nativas. Dissertação, **Universidade Federal do Rio de Janeiro**. 2007.

DE VOOGD, N.J.; ALVAREZ, B.; BOURY-ESNAULT, N.; CARBALLO, J.L.; CÁRDENAS, P.; DÍAZ, M.-C.; DOHRMANN, M.; DOWNEY, R.; HAJDU, E.; HOOPER, J.N.A.; KELLY, M.; KLAUTAU, M.; MANCONI, R.; MORROW, C.C. PISERA, A.B.; RÍOS, P.; RÜTZLER, K.; SCHÖNBERG, C.; VACELET, J.; VAN SOEST, R.W.M. (2022). **World Porifera Database**. *Darwinella oxeata* Bergquist, 1961.

DESHPANDE, A.; RIVERA-VICENS, R.E.; THAKUR, N.; WORHEIDE, GERT. Transcriptomic response of *Cinachyrella* cf. *cavernosa* sponges to spatial competition, 2021.

DI CAMILLO, C.G.; BARTOLUCCI, I.; CERRANO, C.; BAVESTRELLO, G. Sponge disease in the Adriatic Sea. **Marine Ecology**, v. 34, n.1, p. 62-71, 2012.

DUCKWORTH A.; WEST, L.; VANSACH, T.; STUBLER, A.; HARDT, M. Effects of water temperature and pH on growth and metabolite biosynthesis of coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series**, v. 462, p. 67–77, 2012.

DUCKWORTH, A.R.; BATTERSHILL, C.N.; SCHIELB, D.R. Effects of depth and water flow on growth, survival and bioactivity of two temperate sponges cultured in different seasons. **Aquaculture**, v. 242, p. 237–250, 2004.

DUCKWORTH, A.R.; WOLFF, C.W. Population dynamics and growth of two coral reef sponges on rock and rubble substrates. **Journal Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 402, p. 49–55, 2011.

ERPENBECK, D. ; SUTCLIFFE, P.; COOK, S.C.; DIETZEL, A.; MALDONADO, M. ; VAN SOEST, R.W.M; HOOPER, J.N.A. ; WORHEIDE, G. Horny sponges and their affairs: On the phylogenetic relationships of keratose sponges. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 63, n. 3, p. 809-816, 2012.

FERREIRA, C.E.L. Non-indigenous corals at marginal sites. **Coral Reefs**, v. 22, p. 498, 2003.

FERREIRA, C.E.L.; GONÇALVES, J.E.A.; COUTINHO, R. Ship hulls and oil platforms as potential vectors to marine species introduction. **Journal of Coastal Research**, v. 39, p. 1341-1346, 2006.

FERREIRA, C.E.L.; GONÇALVES, J.E.A.; COUTINHO, R. Community structure of fishes and habitat complexity in a tropical rocky shore. **Environmental Fish Biology Journal**, v.61, p.353-369, 2001.

FRANSOZO, A.; NEGREIROS-FRANSOZO, M.L. Zoologia dos Invertebrados. **1ª edição, Rio de Janeiro, Roca**, 2016.

GARRABOU, J.; COMA, R.; SOUSSAN, B.; BALLY, M.; CHEVALDONNE, P. *et al.* Mass mortality in Northwestern Mediterranean rocky benthic communities: effects of the 2003 heat wave. **Global Change Biology**, v. 15, p. 1090–1103, 2009.

GARRABOU, J.; GÓMEZ-GRAS, D.; LEDOUX, J.B.; LINARES, C.; BENSOUSSAN, N.; LÓPEZ-SENDINO, P; *et al.* Collaborative database to track mass mortality events in the Mediterranean Sea. **Frontiers in Marine Science**, v. 6, p. 707, 2019.

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

GIRARD, E.B.; KALIWODA, M.; SCHMAHL, W.W, *et al.* Biodegradation of textile waste by marine 681 bacterial communities enhanced by light. **Environmental Microbiology Reports**, 2020.

GIRIBET, G.; EDGEcombe, G.D. The Invertebrate Tree of Life. **Editora Princeton University Press**, 1^a ed., 2020.

GRANTHOM-COSTA, L.V., FERREIRA, C.G.W.; DIAS, G.M. Biodiversity of ascidians in a heterogeneous bay from southeastern Brazil. **Management of Biological Invasions**, v. 7, n.1, p. 5-12, 2016.

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

HECHTEL, G.J. A systematic study of the Demospongiae of Port Royal, Jamaica. **Bulletin of the Peabody Museum of Natural History**, v. 20, p. 1–103, 1965.

HILL, M.S. Spongivory on Caribbean reefs releases corals from competition with sponges. **Oecologia**, v. 117, 143-150, 1998.

HOOPER, N.A., VAN SOEST, R.W.M. Systema Porifera: a guide to the classification of sponges. **Kluwer Academic, Plenum Publishers**, New York. 2002.

HOPPE, W.F. Growth, regeneration and predation in 3 species of large coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series**, v. 50, p. 117–125, 1988.

KOOPMANS, M.; WIJFFELS, R.H. Seasonal Growth Rate of the Sponge **Haliclona oculata** (Demospongiae: Haplosclerida). **Marine Biotechnology**, v. 10, p. 502–510, 2008.

LEONG, W.; PAWLIK, J.R. Comparison of reproductive patterns among 7 Caribbean sponge species does not reveal a resource trade-off with chemical defenses. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 401, n. 1–2, p. 80-84, 2011.

LEONG, W.; PAWLIK, J.R. Evidence of a resource trade-off between growth and chemical defenses among Caribbean coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series**, v. 406, p. 71–78, 2010.

LIECHTER, J.J.; WITMAN, J.D. Water flow over subtidal rock walls: relation to distribution and growth rates of sessile suspension feeders in the Gulf of Maine. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 209, p. 293–307, 1997.

LORDERS, F.L.; MIRANDA, R.J.; NUNES, J.A.C.; BARROS, F. Spongivory by fishes on southwestern Atlantic coral reefs: no evidence of top-down control on sponge assemblages. **Frontiers in Marine Science**, v. 5, p. 256, 2018.

MCGRATH, E.C., WOODS, L., JOMPA, J. *et al.* Growth and longevity in giant barrel sponges: Redwoods of the reef or Pines in the Indo-Pacific? **Scientific Reports**, v. 8, p. 15-31, 2018.

MCLEAN, E.L.; YOSHIOKA, P.M. Substratum effects on the growth and survivorship of the sponge *Desmapsamma anchorata*. **Caribbean Journal of Science**, v. 44, n. 1, p. 83-89.

MCMURRAY, S.E.; FINELLI, C.M.; PAWLIK, J.R. Population dynamics of giant barrel sponges on Florida coral reefs. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 473, p. 73-80, 2015.

MESSANO, L.V. R.; GONÇALVES, J. E. A.; FERREIRA, C.E.L.; COUTINHO, R. Capítulo 2. Caracterização ecológica dos ambientes de substrato consolidado. In: Biodiversidade Marinha dos Costões Rochosos de Arraial do Cabo, Histórico, Ecologia e conservação. **Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira**, p.: 48-75, 2020

MENDONÇA, T. C. M.; MORAES, E. A. de; 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. Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p.372-390, 2013.

MORAES, E. A. de; et al. A leitura da gestão socioambiental da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo sob a ótica dos pescadores locais. In: Anais do IV Encontro da Associação Nacional de Pós graduação e Pesquisa em Ambiente e Sociedade. Brasília: ANPPAS, v. IV. 2008.

MURICY, G., 1989. Sponges as pollution-biomonitoring at Arraial do Cabo, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia** 49: 347-354.

MURICY, G.; HAJDU, E. Porifera Brasiliensis: guia de identificação das esponjas marinhas mais comuns do Sudeste do Brasil. **Museu Nacional, Série Livros 17, Rio de Janeiro**, n. 104, 2006.

MURICY, G.; HAJDU, E.; CUSTÓDIO, M.R.; KLAUTAU, M.; RUSSO, C.; PEIXINHO, S. Sponge distribution at Arraial do Cabo, SE Brazil. In: MAGOON, O.T.; CONVERSE, H.; TIPPIE, V.; TOBIE, L.T.; CLARK, D. (Eds). **Proc. VIIth Symp Coast Ocean Manag, Long Beach**. ASCE Publ. p. 1183-1195, 1991.

MURICY, G.; LOPES, D.A.; HAJDU, E.; CARVALHO, M.S.; MORAES, F.C.; KLAUTAU, M.; MENEGOLA, C.; PINHEIRO, U. Catalogue of Brazilian Porifera. **Museu Nacional, Série Livros**, 300 pp. 2011.

MURICY, G.; SILVA, O.C. Esponjas marinhas do Estado do Rio de Janeiro: um recurso renovável inexplorado. In: Ecologia dos Ambientes Costeiros do Estado do Rio de Janeiro. **Série Oecologia Brasiliensis**, v. 7, p. 155–178, 1999.

OLINGER, L.K.; CHAVES-FONNEGRA, A.; ENOCHS, I.C.; BRANDT, M.E. Three competitors in three dimensions: photogrammetry reveals rapid overgrowth of coral during multispecies competition with sponges and algae. **Marine Ecology Progress Series**, v.657, p. 109-121, 2021.

OLINGER, L.K.; SCOTT, A.R.; MCMURRAY, S.E.; PAWLIK, J.R. Growth estimates of Caribbean reef sponges on a shipwreck using 3D photogrammetry. **Sci Rep**, v. 9, p. 1–12, 2019.

PAGE, M.J.; NORTHCOTE, P.T.; WEBB, V.L.; MACKAY, S.; HANDLEY, S. J. Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida). **Aquacult.**, v. 250, p. 256–269, 2005.

PAWLIK, J.R., LOH, T.L., MCMURRAY, S.E. A review of bottom-up vs. top-down control of sponges on Caribbean fore-reefs: What's old, what's new, and future directions. **PeerJ**, v. 6, 2018.

PAWLIK, J.R., MCFALL, G.; ZEA, S. Does the Odor from Sponges of the Genus *Ircinia* Protect Them from Fish Predators? **Journal Chemical Ecology**, v. 28, p.1103–1115, 2002.

PAWLIK, J.R.; MCMURRAY, S.E. Annual Review of Marine Science The Emerging Ecological and Biogeochemical Importance of Sponges on Coral Reefs. **The Annual Review of Marine Science**, v. 12, p.31–33, 2020.

RAMÍREZ, M.C.A. Terpenos rearranjados da esponja *Darwinella* cf. *oxeata* com potencial leishmanicida. 2015. 112f. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de São Paulo: São Paulo, 2015.

SANT' ANNA, K. M. Interações competitivas entre a esponja *Darwinella* cf. *oxeata* e o coral invasor *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829 na região de Arraial do Cabo, RJ/**Dissertação de mestrado**, p. 127, 2016.

SILVA, A.G. Respostas a distúrbios ambientais: o uso de esponjas marinhas como modelo biológico. **Tese de doutorado**, p. 176, 2018.

TANAKA, K. Growth dynamics and mortality of the intertidal encrusting sponge *Halichondria okadai* (Demospongiae, Halichondrida). **Mar Biol (Berl)**, v.140, p. 383–389, 2002.

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

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

VALENTIN, J.L. Ressurgência: fonte de vida dos oceanos. **Ciência Hoje**, v.18, p. 19–25, 1994.

WULFF, J. Chapter four - Ecological Interactions and the Distribution, Abundance, and Diversity of Sponges. **Advances in Marine Biology**, v. 61, p. 273-344. 2012.

WULFF, L.J. Targeted predator defenses of sponges shape community organization and tropical marine ecosystem function. **Journal: Ecological Monographs**, v.91, n. 2, 2020.

Capítulo 3

Estudo da variação do perfil químico da esponja *Darwinella* sp. (Porifera: Dendroceratida) frente a relações ecológicas de competições interespecíficas na região de Arraial do Cabo, RJ”.

RESUMO

O espaço é um recurso altamente limitante para organismos sésseis marinhos que habitam substratos consolidados. Assim, interações competitivas por espaço são comuns em ambientes bentônicos, e, geralmente, esses encontros são mediados pela liberação de substâncias químicas. A esponja *Darwinella* sp. é um membro abundante da comunidade bentônica de Arraial do Cabo. Nesta região, *Darwinella* sp. é frequentemente observada crescendo próximo ao coral invasor *Tubastraea coccinea*, ao antozoário *Palythoa caribaeorum* e a algas *turf*, sugerindo uma forte interação entre essas espécies e a esponja. Desta maneira, o objetivo do presente estudo foi verificar se o perfil químico da esponja *Darwinella* sp. pode variar quando em interação com esses respectivos competidores. Para isso, o trabalho compara o perfil químico entres áreas dos tecidos que estão diretamente em contato com os organismos (fronteira) e as áreas onde não existe contato (parte interna), afim verificar se existe alguma variação na produção de metabólitos secundários. Ambas as partes da esponja amostradas (fronteira e parte interna) foram comparadas também com tecidos coletados de outros espécimes de *Darwinella* sp. que ocorrem em grandes manchas, onde só havia a presença da esponja (controle). Todas análises foram realizadas através de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC/EM), e o perfil químico de cada amostra foi realizada com base nos dados do espectro de massa e tempo de retenção das substâncias. Os resultados mostram a existência de uma variabilidade química disposta espacialmente em diferentes partes do tecido de *Darwinella* sp. (fronteira e parte interna) quando comparados aos controles, o que pode ser indicativo de uma estratégia de defesa desenvolvida pela espécie. Na interação entre a esponja e *Palythoa caribaeorum*, as substâncias majoritárias como terpenos e esteróis foram detectadas de forma homogênea pelo tecido da esponja (parte interna e fronteira), no entanto, foram diferentes quando comparadas ao controle. Na interação da esponja com o coral *Tubastraea coccinea* foram detectadas variações na abundância de terpenos e esteróis entre a área de fronteira e parte interna. E por último, a interação entre as algas e a esponja foi a única que não demonstrou diferenças químicas entre os tratamentos e os controles, sugerindo que a presença das algas não influencia no perfil químico da esponja *Darwinella* sp.. Assim, de acordo com os resultados encontrados, sugere-se que o perfil químico de *Darwinella* sp. é capaz de variar conforme a identidade dos competidores que compartilham o substrato consolidado com a esponja.

Palavras chave: Competição, *Darwinella* sp., metabólitos secundários e perfil químico.

ABSTRACT

Space is a highly limiting resource for marine sessile organisms inhabiting consolidated substrates. Thus, competitive interactions for space are common in benthic environments, and usually these encounters are mediated by the release of chemicals. The sponge *Darwinella* sp. is an abundant member of the Arraial do Cabo benthic community. In this region, *Darwinella* sp. is frequently observed growing near the invasive coral *Tubastraea coccinea*, the antozoan *Palythoa caribaeorum* and turf algae, suggesting a strong interaction between these species and the sponge. Thus, the aim of the present study was to verify whether the chemical profile of the sponge *Darwinella* sp. can vary when in interaction with these respective competitors. For this, the study compares the chemical profile between areas of the tissues that are directly in contact with the organisms (border) and areas where there is no contact (internal part), in order to verify if there is any variation in the production of secondary metabolites. Both parts of the sponge sampled (border and inner part) were compared also with tissues collected from other specimens of *Darwinella* sp. that occur in large patches, where there was only the presence of the sponge (control). All analyses were performed using gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC/MS), and the chemical profile of each sample was performed based on the mass spectrum data and retention time of the substances. The results show the existence of spatially arranged chemical variability in different parts of the *Darwinella* sp. tissue (border and inner part) when compared to controls, which may be indicative of a defense strategy developed by the species. In the interaction between the sponge and *Palythoa caribaeorum*, the majority substances such as terpenes and sterols were detected homogeneously throughout the sponge tissue (internal and border area), however, they were different when compared to the control. In the interaction of the sponge with the coral *Tubastraea coccinea*, variations in the abundance of terpenes and sterols were detected between the border area and inner part. And finally, the interaction between the algae and the sponge was the only one that did not show chemical differences between the treatments and the controls, suggesting that the presence of the algae does not influence the chemical profile of the sponge *Darwinella* sp.. Thus, according to the results found, it is suggested that the chemical profile of *Darwinella* sp. is able to vary according to the identity of the competitors that share the consolidated substrate with the sponge.

Key words: competition, *Darwinella* sp., secondary metabolites and chemical profile.

3.1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de espaço é um componente vital para a sobrevivência de invertebrados bentônicos marinhos, pois os organismos sésseis são dependentes de recursos disponíveis em uma determinada área para o seu estabelecimento e crescimento na comunidade bentônica (Jackson 1975, Bell 2003, Galitz *et al.* 2021). Por ser altamente limitante, a disputa por este recurso gera processos competitivos entre as espécies presentes no substrato consolidado (Aerts 2000), e em função disso, o espaço atua como um fator limitante que pode afetar a biodiversidade nesses habitats (Sandin e McNamara 2012).

Para garantir o seu sucesso e estabelecimento, os invertebrados marinhos dispõem de estratégias que os permitem sobreviver em um ambiente altamente dinâmico e competitivo (Jackson 1975; Chadwick *et al.* 2011). Mecanismos físicos e químicos são descritos como importantes estratégias para sobrevivência e manutenção desses organismos em um determinado ambiente, tais como: padrões de sobrecrecimento de esponjas (Porter e Targett 1988, Aerts e Van Soest 1997, Aerts 1998, Chadwick e Morrow 2011, Wang *et al.* 2012 e Silva 2014), comportamento agressivo ocasionado pela extrusão de filamentos mesentéricos por corais (Paula 2007, Santos 2013, Hennessey e Sammarco 2014) e uso de mecanismo de defesa química que envolve a produção de metabólitos secundários com função alelopática (Santos 2013, De Paula 2007, Silva 2014, Miranda 2016). Neste caso, tem sido demonstrado que as defesas químicas garantem a manutenção da disponibilidade de espaço através da eliminação ou deslocamento do concorrente mediado pela liberação de compostos bioativos (Aerts e Van Soest 1997). Além disso, as atividades

alelopáticas também atuam na redução da pressão por predadores e exercem ação antiincrustante (Aerts e Van Soest 1997).

Entre todos os invertebrados sésseis, as esponjas se destacam por estarem entre os organismos marinhos que possuem o maior número e diversidade de metabólitos secundários (Aerts e Van Soest 1997). Os representantes do Filo Porífera são considerados organismos de sucesso no reino animal e grandes concorrentes em processos competitivos (Wulff 2020). A maioria dos estudos sobre interação espacial mediada por compostos químicos foi realizado em esponjas e corais, e destacam os poríferos como indivíduos competitivamente superiores (ver Sullivan *et al.* 1983; de Voogd *et al.* 2004; Pawlik *et al.* 2007).

Ainda há poucos trabalhos que descreveram, entretanto, sobre como se dá a distribuição espacial de metabólitos secundários nos tecidos das esponjas quando encontram-se em interações competitivas com organismos vizinhos. Segundo Rohde (2011), as esponjas podem aumentar o seu potencial defensivo através da alocação não aleatória de metabólitos secundários em diferentes partes do seu corpo, entre diferentes indivíduos de uma mesma população e entre populações diferentes de uma mesma espécie (Hay e Steinberg 1992).

De acordo com teoria de defesa ótima (TOD), os metabólitos secundários podem ser encontrados em maiores concentrações nas áreas consideradas mais vitais (como órgãos reprodutivos e tecidos de crescimento), ou seja, aquelas que podem estar expostas a ação de predadores e potenciais competidores. Contudo, nas áreas (tecidos) onde a perda seria menos prejudicial para a sobrevivência da espécie, a alocação de metabólitos secundários seria menor. Dessa maneira, as esponjas conseguem reduzir o custo de produção

gerado por esses processos, uma vez que o investimento em compostos bioativos demanda a alocação de energia de funções vitais como crescimento, reprodução, reserva energética e manutenção do organismo (Cronin 2001, Texeira 2009). Por exemplo, Becerro *et al.* (1998) e Schupp *et al.* (1999) encontraram concentrações mais altas de metabólitos defensivos em partes mais apicais em comparação com as partes basais da esponja. Similarmente, já foram detectadas maiores concentrações de metabólitos de dissuasão contra predação de peixes (Freeman e Gleason, 2010) e estrelas do mar (Peters *et al.* 2009) nas camadas mais externa dos tecidos de diferentes espécies de esponjas.

A esponja *Darwinella* sp. é um membro comum e abundante na comunidade bentônica de Arraial do Cabo (Batista *et al.* 2020). Nesta região, a esponja *Darwinella* é frequentemente observada crescendo próximo ao coral invasor *Tubastraea coccinea*, ao antozoário *Palythoa caribaeorum* e a algas *turf*, sugerindo uma forte interação entre essas espécies e a esponja (observação pessoal). Todos estes potenciais competidores de *Darwinella* sp. são abundantes nessa região e detêm grande potencial alelopático (Oliveira 2005; Batista *et al.* 2017; Guilhem *et al.* 2020; Mello Fonseca *et al.* 2021; Oliveira *et al.* 2022). Para a esponja *Darwinella* sp., são descritos compostos como terpenos e esteróis (Ramirez 2017), entretanto, não há dados a respeito da variação química diante de interações competitivas. Esta espécie vem colonizando e ocupando cada vez mais costões rochosos em Arraial do Cabo, sugerindo seu alto potencial competitivo ocasionado por uma produção diferenciada de metabólitos secundários.

Desta maneira, o presente estudo tem o objetivo de verificar o perfil químico da esponja *Darwinella* sp. quando se encontra em contato com distintos competidores (*T. coccinea*, *P. caribaeorum* e algas *turf*). Para isso, o trabalho compara o perfil químico entres áreas que estão diretamente em contato com os organismos (fronteira) e as áreas onde não existe contato (parte interna), afim verificar se existe alguma variação na produção de metabólitos secundários.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Coleta da esponja *Darwinella* sp.

Nos meses de setembro, outubro e novembro de 2019, espécimes da esponja *Darwinella* sp. (N=42) foram coletadas na Ilha dos Porcos (22°58'01" S, 41°59'33") em uma profundidade de oito metros (**Figura 3.1**). Os espécimes da esponja foram selecionados no costão rochoso quando em interação com três potenciais competidores: o coral sol *T. coccinea* (N=6), o zoantídeo baba de boi *P. caribaeorum* (N=6) e algas *turf* (N=6). Para cada interação com o organismo competidor, o tecido da esponja foi dividido e coletado separadamente, em duas seções: área de contato direto (contato físico; N=6) e área sem contato (parte interna; N=6) com o organismo competidor, com a finalidade de comparar o perfil químico entre essas duas áreas. Além disso, para o controle (N=6), foram escolhidos locais onde a esponja era dominante no costão rochoso e sem nenhum organismo vizinho aparente (**Figura 3.2 e 3.3**).

Após a coleta, todos os espécimes foram armazenados e encaminhados ao Laboratório de Recursos Marinhos (LAREMAR) no Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM), onde a fauna associada foi retirada, as esponjas pesadas (peso úmido) e posteriormente congeladas. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao laboratório de química do Grupo de Produtos

Naturais de Organismos Aquáticos (GPNOA), localizado na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), campus Macaé, para preparação e análise da composição química.

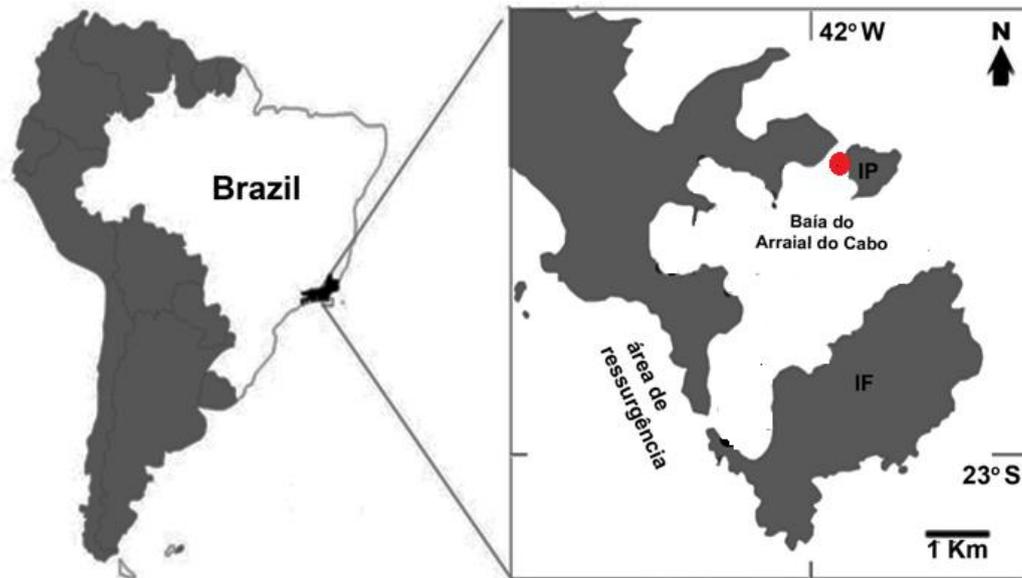


Figura 3.1 Mapa de localização do município de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil e ponto de coleta dos espécimes de *Darwinella* sp. na Baía do Arraial do Cabo, Ilha dos Porcos (em vermelho).

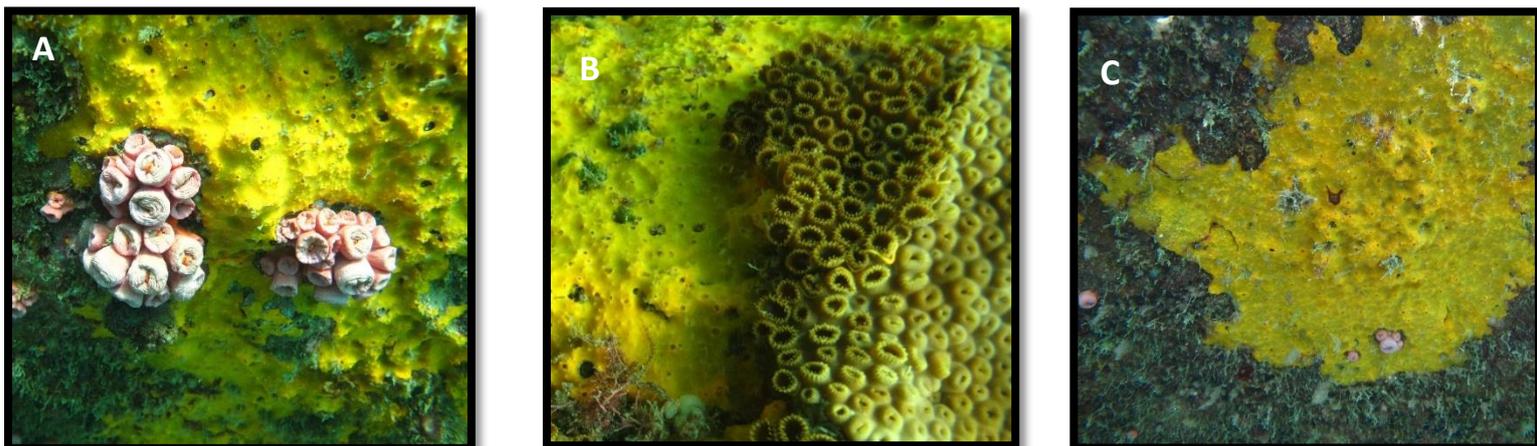
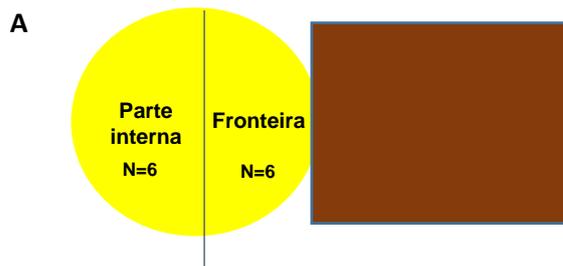
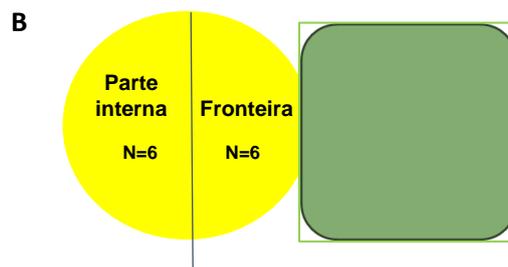


Figura 3.2 Interação da esponja *Darwinella* sp. com seus respectivos competidores. Em (A) interação entre *Darwinella* sp. e *Tubastraea coccinea*, em (B) interação entre *Darwinella* sp. e *Palythoa caribaeorum* e em (C) interação entre *Darwinella* sp. e algas turf.

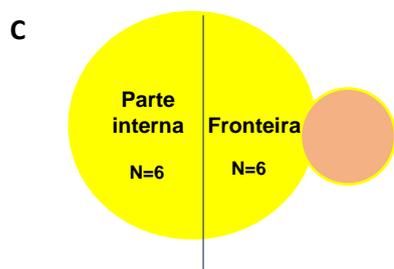
Interação entre *Darwinella* sp. e *Palythoa caribaeorum*



Interação entre *Darwinella* sp. e algas turf



Interação entre *Darwinella* sp. e coral *Tubastraea*



Controle da esponja *Darwinella* sp.

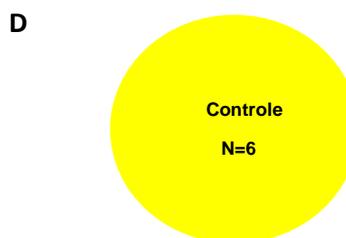


Figura 3.3 Desenho esquemático representando a metodologia utilizada para coleta do tecido da esponja *Darwinella* sp. realizada na Ilha dos Porcos. Em (A) coleta de tecido na área fronteira de interação entre *Darwinella* sp. e *Palythoa caribaeorum* (N=6) e parte interna (N=6); em (B) coleta de tecido na área fronteira de interação entre *Darwinella* sp. e algas turf fronteira (N=6) e parte interna (N=6), em (C) Interação entre *Darwinella* sp. e *Tubastraea coccinea* fronteira (N=6) e parte interna (N=6) e em (D) *Darwinella* sp. como controle (n=6).

3.2.2 Extração das substâncias orgânicas

Os espécimes da esponja *Darwinella* sp. foram liofizadas separadamente e cada o extrato bruto, foi obtido por meio de maceração estática em uma mistura de acetato de etila e metanol (AcOEt: MeOH 1:1 v/v, HPLC, TEDIA), na proporção de 1 ml de solução por 0,118 g de biomassa seca da esponja. Após adição da mistura dos solventes, o material foi colocado no ultrassom por 20 minutos, seguido de duas horas de descanso e filtrado por gravidade. O mesmo processo foi repetido por mais duas vezes com tempo de descanso de 16 horas para a segunda e 2 horas para a terceira extração. Os materiais obtidos durante as três repetições do procedimento foram reunidos e os solventes foram evaporados sob pressão reduzida com o auxílio de um rotaevaporador. Um

total de 42 extratos brutos foram obtidos, sendo eles: 18 amostras da área de fronteira, 18 amostras da área interna e 6 controles.

3.2.3 Análise dos perfis químicos

3.2.3.1 Preparação

Os extratos foram solubilizados em diclorometano (grau HPLC, Tedia) e filtrados em filtro de seringa PTFE de 0,45 µm (Millipore, EUA) para remover qualquer possível material particulado presente na amostra. Em seguida, o solvente foi evaporado e as amostras liofilizadas. O material restante foi pesado, ressuspenso em acetato de etila (grau HPLC, Tedia), ajustado para uma concentração final de 1 mg/ml e analisado.

3.2.3.2 Sistema de Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)

As análises por GC/EM foram realizadas em um GC-2010 SHIMADZU acoplado ao espectrômetro de massas QP-2010 ultra, composto por um autoinjeter AOC-20i, com ionização por impacto de elétrons a 70 eV e coluna Rtx-1MS 30m x Øint 0,25 milímetros. O método usado teve fluxo de injeção de 1,20 ml / min no modo split com razão de (1/5), utilizando hélio como gás de arraste. A temperatura do forno foi programada de 160° C durante 3 minutos, seguida de três rampas de temperatura, sendo a primeira até 260° C, a segunda de 260° C a 300° C e a última de 300 ° C a 310 ° C, totalizando 31 minutos. As temperaturas do injetor e da fonte de íons foram mantidas constantes em 280 ° C e 200 ° C, respectivamente.

3.2.3.3 Perfil químico

A comparação dos perfis químicos para cada uma das amostras foi realizada com base nos dados do espectro de massa e tempo de retenção das substâncias. Cada substância foi identificada pela comparação de seu espectro de massa com os disponíveis na biblioteca NIST11, quando exibiram índice de similaridade superior a 80%, seguido de valores de percentagem de área relativa. As substâncias com abundância superior a 1% foram consideradas substâncias principais majoritárias. O *software Metfrag* foi utilizado para a identificação das três classes de substâncias majoritárias (detectadas em todas as amostras) cujo o índice de similaridade foi inferior a 80% de acordo com a biblioteca NIST11. Este software realiza anotação de espectros de massa das substâncias para a identificação da estrutura de uma molécula, comparando o perfil de fragmentação das substâncias alvo do estudo (não identificadas) com a fragmentação das substâncias já registradas em bancos de dados da literatura (KEGG e Lipidmaps).

3.3 ANÁLISE DOS DADOS

3.3.1 Análise de componente principal (ACP)

A variação do perfil químico da esponja *Darwinella* sp. foi realizada através da técnica exploratória multivariada de Análise de Componentes Principais (ACP). Para a preparação prévia dos dados, o *software* COWtool (<<http://www2.biocentrum.dtu.dk/mycology/analysis/cow/>>) foi utilizado como ferramenta para o alinhamento de base de cada cromatograma e para corrigir o tempo de retenção do deslocamento dos picos através do algoritmo de distorção

de correlação (COW) (ver Nielsen *et al.* 1998). A matriz gerada com o valor de todos os cromatogramas foi centralizada antes de executar a ACP usando o pacote “ChemometricsWithR” (Wehrens 2011) em R (<http://www.R-project.org>). Diferentes combinações entre as componentes principais foram realizadas (CP1, CP2, CP3 e CP4), entretanto, as componentes 1 e 2 (CP1 e CP2) evidenciaram o melhor percentual de variabilidade química entre as amostras.

3.3.2 Análise estatística

O teste paramétrico ANOVA unifatorial foi utilizado para testar se há diferença significativa entre a dispersão dos *scores* ocupado por cada amostra nas CP1 e CP2. A normalidade dos dados foi previamente testada através do teste Shapiro-Wilk. O nível de significância estabelecido foi de $\alpha=0,05$. O teste *a posteriori* de Tukey foi utilizado para verificar em quais tratamentos diferiram significativamente. As análises estatísticas foram realizadas através do programa Statistic 10.0.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Estudo dos perfis químicos dos extratos brutos de *Darwinella* sp.

Os perfis químicos dos diferentes tratamentos analisados por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) mostrou a presença de 37 substâncias majoritárias (abundância superior a 1%), das quais 18 tiveram a sua estrutura sugerida e 19 não identificadas (**Tabela 3.1 e 3.2**). Dentre as substâncias encontradas estão: alcaloides (**6**), álcoois (**9**), aldeídos (**1, 7, 21**), ácidos graxos (**2,4**), esteróis (**26,28**) hidrocarbonetos (**5,11, 24, 25**), substâncias nitrogenadas (**3, 8**) entre outras (**10,15, 16**) (**Tabela 3.1 e 3.2**). As substâncias

que apresentaram área $\geq 1\%$ de área relativa de cada extrato bruto foram evidenciadas nos seus respectivos cromatogramas (**Figura 3.4; ANEXO B**).

Ao total foram observadas três substâncias majoritárias comuns a todos os tratamentos e controles, sendo duas não identificadas (NI1 e NI2). As substâncias NI1 (**12**) e NI2 (**17**) foram as mais abundantes em todas as amostras e se assemelham, respectivamente, a classe dos esteróis e terpenos (**Figura 3.4**). A terceira substância sugerida é um hidrocarboneto: Pentacyclo [9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)] dodecane,3,3,6,6,9,9,12,12-octamethyl,anti,syn,anti (**24**) (**Figura 3.4**).

Através do perfil químico também foi possível verificar que tratamentos e controles variaram quantitativamente e qualitativamente. De acordo com a tabela 3.1, foi possível observar a maior alocação de substâncias nos tratamentos referentes a parte interna do tecido de *Darwinella* sp. quando em interação com algas *turf* (A1) e com *T. coccinea*. Enquanto que a menor alocação de substâncias foi registrada no tratamento referente a fronteira do tecido de *Darwinella* sp com o coral *T. coccinea*. Além disso, a menor quantidade de substâncias foi registrada no controle (N=30). Adicionalmente, algumas substâncias detectadas nos diferentes tratamentos não foram encontradas no controle, por exemplo, as substâncias identificadas, 1-Nonadecene (**5**); 2,3-Hexanediol (**6**); Hexane 2,3,5-trimethyl (**8**); NI (**27**) e beta.-Sitosterol (**28**). Por outro lado, as substâncias Pentadecanal (**1**) e o Ácido tridecanóico (**2**) foram encontrados em todas as amostras.

Tabela 3.1. Substâncias dos extratos da esponja *Darwinella* sp. detectadas pelo CG-EM com área relativa $\geq 1\%$. Compostos com índice de similaridade inferior a 80% pela biblioteca NIST estão representados pelas letras NI (não identificado). **Legendas: Controle (CT) e *Darwinella* sp. com *T. coccinea* fronteira (TF) e parte interna (TI). A letra “x” indica que a substância não foi detectada no extrato.**

Pico	TR	Componente	Fórmula molecular	Área relativa%																	
				CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6	TF1	TF2	TF3	TF4	TF5	TF6	TI1	TI2	TI3	TI4	TI5	TI6
1	8.07	Pentadecanal	C ₁₅ H ₃₀ O	0,52	0,27	0,59	0,27	0,15	0,55	0,24	X	0,18	0,63	0,08	0,64	0,07	0,62	1	0,63	0,87	0,32
2	8.26	Ester metílico do ácido tridecanóico	C ₅ H ₁₀ O ₂	0,3	0,14	0,18	0,1	0,1	X	0,27	0,24	0,3	0,34	0,43	0,55	0	1,09	0,34	0,62	0,08	0,15
3	8.37	2-Propanone, 1-phenyl-, oxime	C ₉ H ₁₁ NO	X	X	X	X	X	0,07	0,07	0,08	X	0,05	X	X	0,04	0,07	0,06	0,1	0,14	X
4	8.87	Ácido hexadecanóico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	X	X	0,81	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,05	1,25	0,22	0,26	1,36	0
5	9.55	1-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,3	0,4	X	0,96	0,05	0,96	0,28	X
6	9.97	2,3-Hexanediol	C ₆ H ₁₄ O ₂	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,02	0,13	X	X	X	X
7	10.62	8-Hexadecenal, 14-methyl	C ₁₇ H ₃₂ O	0,3	X	0,35	X	0,19	0,73	0,27	0,21	0,7	0,8	0,07	1,54	0,03	0,27	0,53	0,88	0,66	0,2
8	10.92	Hexane, 2,3,5-trimethyl-	C ₆ H ₈ N ₆	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,24	0,05	0,25	0,02	0,2	X	0,26	0,27	X
9	11.88	1-Butanol, 3,3-dimethyl-	C ₆ H ₁₄ O	X	X	X	X	0,56	0,05	X	0,33	0,11	0,39	0,21	X	0,46	0,1	X	0,19	0,24	X
10	12.00	tert-Butyl cyclopropylmethyl sulfoxide	C ₈ H ₁₆ OS	X	X	0,19	X	1,23	0,2	0,08	0,81	0,46	0,62	0,51	X	0,75	0,71	X	0,35	X	X
11	12.61	Nonadecene	C ₁₂ H ₂₄	0,28	X	0,26	X	X	0,18	0,16	0,45	X	0,29	0,29	0,41	0,08	0,88	0,34	0,84	0,49	X
12	15.27	NI		16,75	23,1	12,67	11,98	5,89	21,17	4,49	19,23	3,09	12,73	16,16	12,02	5,39	15,95	32,26	14,83	13,89	14,36
13	16.40	NI		1,29	0,5	0,37	X	0,53	0,52	X	1,25	X	1	1,79	0,16	2,6	3,88	1,56	0,59	2,08	X
14	16.70	NI		0,16	X	X	X	X	0,26	X	1,43	X	0,32	0,55	0,12	0,26	0,79	1,09	1,21	0,44	X
15	16.85	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	0,43	0,58	0,36	0,82	0,13	0,46	1,37	0,72	1,17	1,03	0,45	0,8	1,79	0,66	0,84	1,08	1,06	0,36
16	17.30	1-Propylpentyl trifluoroacetate	C ₁₀ H ₁₇ F ₃ O ₂	1,56	X	0,34	X	7,33	1,23	1,4	3,2	4,35	2,5	2,42	X	4,68	0,55	X	1,45	0,72	0,03
17	17.42	NI		20,96	19,51	15,68	25,3	35,38	20,18	27	29,51	26,11	15,69	22,46	11,12	25,32	23,03	14,63	19,21	13,96	17,62
18	17.50	NI		0,73	0,12	0,4	X	X	X		X	0,09	0,63	0,08	0,2	X	X	0,81	X	0,69	X
19	17.68	NI		0,07	X	0,24	X	2,39	0,3	0,16	1,24	0,72	0,79	0,71	X	1,31	0,13	0,11	0,55	X	X
20	18.10	NI		0,13	X	0,48	X	3,02	0,39	0,21	1,43	0,97	1	0,9	X	1,54	X	X	0,56	X	0,21
21	18.24	Retinal	C ₂₀ H ₂₈ O	0,83	1,3	0,82	0,2	X	0,88	X	0,15	X	1,45	X	X	0,04	1,33	5,87	0,36	0,93	0,19
22	18.76	NI		0,84	0,19	0,17	0,16	0,21	0,05	X	0,12	X	0,04	X	X	0,35	1,2	0,16	0,06	0,84	X
23	19.71	NI		X	X	0,18	X	X	X	X	X	X	X	X	X	13,84	X	X	X	X	X

24	19.86	Pentacyclo[9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)]dodecane, 3,3,6,6,9,9,12,12-octamethyl-, anti,syn,anti-	C ₂₀ H ₃₂	10	8,49	1,96	0,6	0,72	3,37	X	4,5	X	6,67	4,1	0,12	5,44	15,72	7,2	2,02	11,81	0,67
25	20.00	Cyclohexane, 2,4-diethyl-1-methyl-	C ₁₁ H ₂₂	0,93	0,8	1,19	X	0,55	0,82	X	0,69	X	0,53	X	X	0,76	0,92	1,3	0,39	0,58	0,49
26	23.10	Cholesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	0,09	X	X	X	0,17	0,29	X	0,19	X	1,3	0,32	4,42	2,6	3,23	X	2,81	1,88	0,26
27	23.58	NI		X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,57	0,16	X	1,13	0,28	X	0,43	X	X
28	25.14	Bsitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,25	X	X	0,56	0,1	X	0,34	X	X
29	25.90	NI		X	0,08	X	X	X	2,03	X	0,35	X	0,76	X	X	X	X	X	X	X	X
30	25.93	NI		X	X	X	X	0,26	X	X	X	X	X	0,56	X	1	X	0,31	0,7	0,47	0,53
31	26.39	NI		X	X	0,08	X	0,4	0,3	X	X	0,48	0,45	X	X	0,79	X	0,23	0,48	0,28	X
32	27.60	NI		X	X	X	X	X	X	X	0,09	X	X	0,26	X	X	X	X	X	X	0,1
33	28.05	NI		3,92	3,57	9,83	2,86	0,19	0,63	2,11	1,68	1,23	1,86	2,35	2,07	0,74	7,29	1,38	3,32	5,82	16,16
34	28.16	NI		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
35	28.35	NI		0,14	X	X	0,16	X	0,04	X	X	X	X	X	X	0,07	0,34	0,14	0,08	0,25	X
36	28.86	NI		0,15	X	0,41	1,04	X	0,04	X	X	X	X	X	1,68	0,34	0,26	0,31	0,04	X	0,2
37	29.10	NI		X	X	X	X	X	1,18	X	1,06	X	0,12	0,71	2,71	0,68	X	0,39	X	0,2	X

Tabela 3.2 Substâncias dos extratos da esponja *Darwinella* sp., detectadas pelo CG-EM com área relativa ≥1%. Substâncias com índice de similaridade inferior a 80% pela biblioteca NIST estão representados pelas letras NI (não identificado). **Legendas:** *Darwinella* sp. com *P. Caribaeorum* fronteira (PF) e parte interna (PI) e *Darwinella* sp. com algas *turf* fronteira (AF) e parte interna (AI). A letra “x” indica que a substância não foi detectada no extrato.

Pico	TR	Componente	Fórmula molecular	Área relativa %																							
				PF1	PF2	PF3	PF4	PF5	PF6	PI1	PI2	PI3	PI4	PI5	PI6	AF1	AF2	AF3	AF4	AF5	AF6	AI1	AI2	AI3	AI4	AI5	AI6
1	8.07	Pentadecanal	C ₁₅ H ₃₀ O	1,49	1,35	2,43	0,73	1,18	1,06	0,17	5,47	1,53	X	0,9	1,38	0,05	0,04	0,2	0,24	0,14	X	1,33	0,46	X	0,08	X	0,57
2	8.26	Ester metílico do ácido tridecanóico	C ₅ H ₁₀ O ₂	X	0,39	0,34	0,32	0,21	0,15	0,25	1,17	0,55	0,29	0,42	0,24	0,43	0,15	0,22	0,3	0,17	0,41	0,47	0,26	0,21	0,7	1,2	0,24
3	8.37	2-Propanone, 1-phenyl-, oxime	C ₉ H ₁₁ NO	0,14	0,09	0,3	0,19	0,31	X	0,09	0,09	0,18	X	X	X	0,13	X	X	X	0,08	X	0,06	0,06	0,13	0,11	0,15	0,12
4	8.87	Ácido hexadecanóico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	X	X	0,26	X	X	X	X	X	0,36	X	X	X	0,08	X	X	X	X	X	X	0,22	X	0,08	X	X
5	9.55	1-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	X	X	0,34	X	X	X	X	X	X	X	X	0,43	X	X	X	X	X	X	0,41	X	1,37	X	0,39	
6	9.97	2,3-Hexanediol	C ₆ H ₁₄ O ₂	X	0,05	0,14	X	X	X	X	0,31	X	X	X	X	0,03	X	X	X	0,08	X	X	0,04	X	X	X	
7	10.62	8-Hexadecenal, 14-methyl	C ₁₇ H ₃₂ O	0,42	1,26	1,38	0,18	0,3	0,37	X	5,44	1,12	X	X	0,74	0,1	0,16	0,38	0,2	0,19	0,24	2,04	0,57	0,38	0,62	0,15	1,36

8	10.92	Hexane, 2,3,5-trimethyl	C ₆ H ₈ N ₆	0,12	0,19	0,11	0,32	X	X	0,92	0,48	X	X	X	X	0,21	0,08	0,19	X	0,24	X	0,13	0,14	X	0,6	X	X
9	11.88	1-Butanol, 3,3-dimethyl	C ₆ H ₁₄ O	X	0,04	0,36	0,17	0,4	0,75	X	X	X	X	X	X	0,34	X	0,09	X	X	X	0,05	0,16	X	0,22	X	0,15
10	12.00	tert-Butyl cyclopropylmethyl sulfoxide	C ₈ H ₁₆ OS	X	0,03	0,79	0,4	0,94	1,63	0,09	X	1,04	X	0,25	X	0,62	0,05	0,25	X	X	X	0,09	0,32	X	0,29	X	0,47
11	12.61	Nonadecene	C ₁₂ H ₂₄	X	0,23	0,28	X	X	X	X	0,28	0,29	X	X	X	0,32	X	X	0,09	X	X	0,18	0,35	X	1,2	0,58	0,32
12	15.27	NI		23,03	11,9	7,8	14,6	3,29	3,15	17,1	17,86	4,72	9,08	0,87	3,38	9,12	11,64	9,52	6,24	13,27	18,1	5,96	19,32	15,9	13,1	21,2	20,59
13	16.40	NI		0,24	0,6	X	0,58	0,92	X	0,23	0,21	X	1,91	X	X	6,41	2,25	0,76	0,12	1,23	2,66	0,42	3,45	0,55	2,31	0,76	1,49
14	16.70	NI		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	2,07	0,55	X	X	0,18	0,26	0,07	1,26	X	0,29	0,12	0,23
15	16.85	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	1,36	3,24	3,17	4,97	2,39	0,44	1,74	3,65	2,86	1,61	1,19	0,26	1,4	0,43	0,61	1,22	0,89	2,16	1,7	0,64	1,36	1,69	1,23	1,47
16	17.30	1-Propylpentyl trifluoroacetate	C ₁₀ H ₁₇ F ₃ O ₂	2,03	0,71	9,75	4,26	11	12,6	2,42	0,21	7,72	x	4,32	2,61	5,11	1,61	5,39	0,17	1,11	0,71	1,38	2,94	X	0,95	X	3,61
17	17.42	NI		18,25	11,4	37,92	17,57	38,4	42,7	15,1	11,6	39,07	11,8	25,3	46,04	13,77	16,32	16,4	9,42	12,68	29	9,11	26,23	26,4	15,2	16,6	27,59
18	17.50	NI		X	0,48		0,08	x	x	0,14	0,34	x	x	x	X	1,11	0,47	0,11	X	0,31	0,32	0,63	X	0,11	0,25	X	1,14
19	17.68	NI		0,19	0,16	1,31	0,76	2,02	2,62	0,22	x	1,67	x	0,64	0,2	0,92	0,13	0,53	X	X	0,11	0,2	0,59	X	0,31	X	0,68
20	18.10	NI		0,23	0,1	1,46	0,91	2,1	2,97	0,3	x	1,98	x	0,87	0,22	1,15	0,16	0,63	X	0,11	0,15	0,24	0,81	X	0,39	X	0,87
21	18.24	Retinal	C ₂₀ H ₂₈ O	3,13	2,14	0,15	0,31	x	0,03	2,55	0,57	x	x	x	X	4,49	4,1	1,08	X	3	X	X	0,46	X	X	X	0,27
22	18.76	NI		X	0,04	0,34	x	0,48	0,61	x	x	x	x	x	0,37	0,08	0,09	X	X	X	X	0,15	0,11	X	0,07	X	0,24
23	19.71	NI		X	0,71	0,05	X	11,2	X	X	X	X	X	X	14,5	0,88	1,97	0,17	X	0,21	X	X	X	X	X	X	X
24	19.86	Pentacyclo[9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)]do decane, 3,3,6,6,9,9,12,12-octamethyl-, anti,syn,anti-	C ₂₀ H ₃₂	5,54	6,95	1,18	7,95	X	0,05	4,75	4,21	0,68	4,35	X	0,38	15,69	11,41	10,4	1,65	10,92	2,75	1,72	6,64	1,34	2,45	2,43	7,55
25	20.00	Cyclohexane, 2,4-diethyl-1-methyl-	C ₁₁ H ₂₂	0,64	0,36	0,64	0,32	X	0,5	0,33	0,21	0,32	X	X	0,61	0,97	0,69	0,32	X	0,18	0,85	0,35	1,21	0,34	0,48	X	1,16
26	23.10	Cholesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	X	X	X	X	X	X	X	0,17	X	X	X	X	3,49	X	X	X	X	1,37	0,89	1,8	X	4,72	2	1,58
27	23.58	NI		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	1,87	X	X	X	X	X	0,62	1,06	X	0,81	X	X	X
28	25.14	Bsitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	1,08	X	X	X	X	X	0,1	X	X	0,16	X	X	X
29	25.90	NI		X	X	X	X	0,46	X	X	X	X	2,01	X	X	X	X	X	X	X	1,91	X	0,72	X	1,29	X	X
30	25.93	NI		X	0,41	0,75	X	X	X	X	0,76	X	X	X	X	1,24	0,07	X	X	X	X	1,25	X	X	X	X	3,24
31	26.39	NI		X	0,31	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0,85	X	X	X	X	X	0,77	X	X	0,63	X	X	1,01
32	27.60	NI		X	X	X	0,12	X	X	X	X	X	X	0,56	X	X	X	0,43	X	X	X	X	X	0,8	X	X	X
33	28.05	NI		0,69	1,56	1,58	3,08	0,92	0,95	X	2,45	3,41	0,87	0,76	X	1,02	0,17	1,29	3,14	0,95	0,96	1,84	1,08	1,08	7,6	3,89	2,06

34	28.16	NI		X	X	X	X	0,14	X	X	X	0,16	X	0,49	X	0,05	X	X	0,14	X	X	0,16	0,17	X	X	X	X
35	28.35	NI		0,27	X	X	X	X	X	X	0,09	X	X	X	X	X	X	0,08	X	X	X	X	X	X	X	X	X
36	28.86	NI		0,45	X	X	0,31	X	X	0,2	X	0,39	X	0,19	0,08	X	X	X	0,23	X	X	X	0,15	0,34	1,05	X	0,23
37	29.10	NI		X	0,27	X	X	0,52	X	X	X	0,26	6,96	3,58	X	X	0,49	0,72	0,09	1,05	4,62	1,01	X	X	X	0,85	2,01

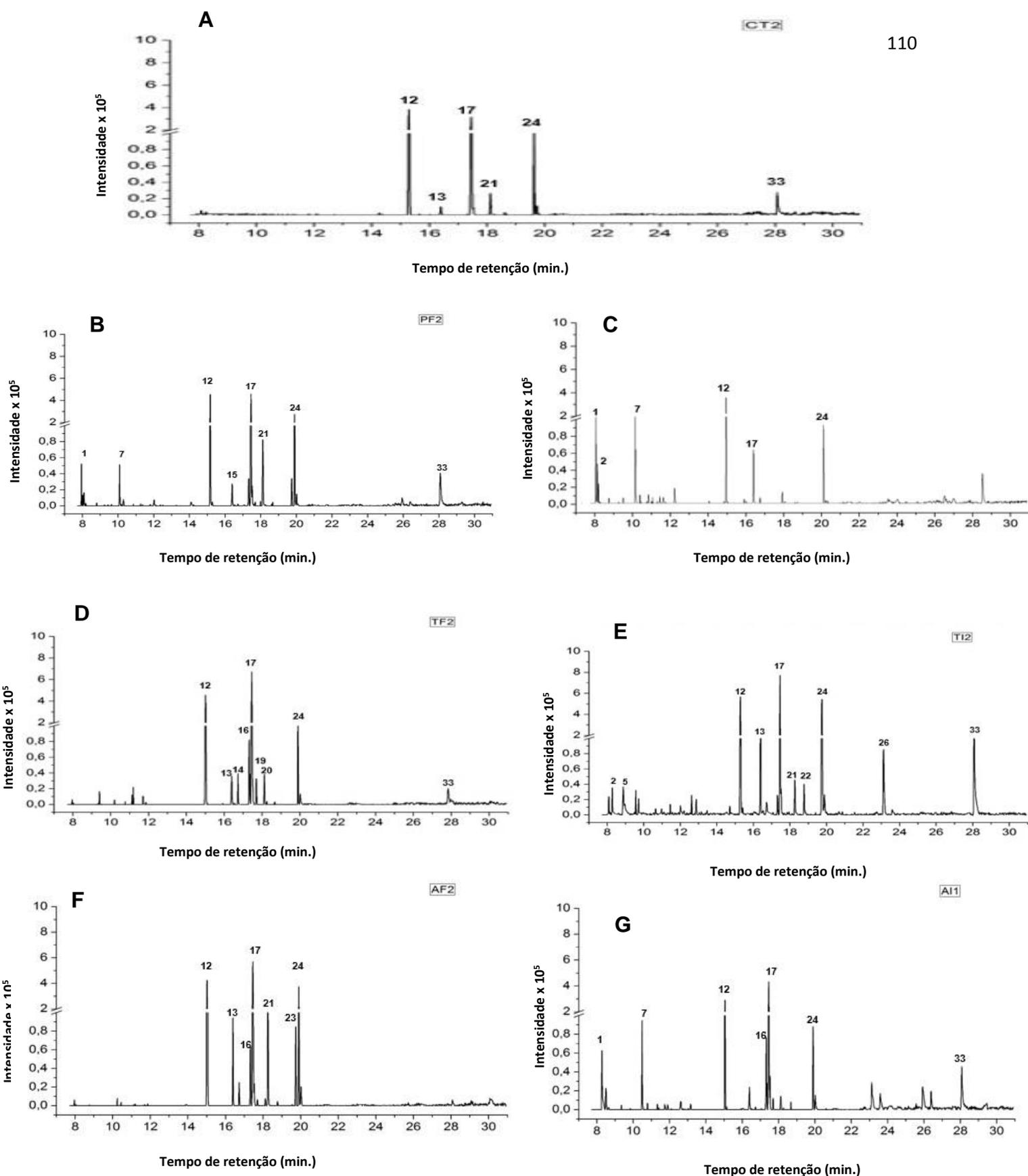


Figura 3.4 Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Em (A) extratos referentes as amostras do controle (CT2), em (B) *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* fronteira (PF2), em (C) *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* parte interna (PI2), em (D) *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea* fronteira (TF2), em (E) *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea* parte interna (TI2), em (F) *Darwinella* sp. com algas turf fronteira (AF2) e em (G) *Darwinella* sp. com algas turf parte interna (AI2). Os números indicam as substâncias mais abundantes (>1% de área relativa).

3.4.2 Análise de componente principal (ACP)

3.4.2.1 Interação de *Darwinella* sp. com os três potenciais competidores

A PCA permitiu avaliar o grau de correlação dos perfis químicos das amostras, bem como encontrar as substâncias que mais contribuíram para os agrupamentos. O componente principal 1 (CP1) e o CP2 explicaram juntos 59.9% da variabilidade dos dados cromatográficos (**Figura 3.5A**). A CP1 agrupou grande parte das amostras no lado positivo. Já na CP2 foi possível evidenciar a variabilidade nos perfis químicos entre tratamentos (I e F) e controles.

Por meio do gráfico dos scores (**Figura 3.5A**) foi possível observar na CP2 dois grandes agrupamentos de amostras distintos: um formado por grande parte dos tratamentos, localizado no lado positivo da CP2; e outro por parte dos controles (CT1; CT2; CT3 e CT6) localizado no lado negativo da CP2. Algumas amostras ficaram distribuídas de forma aleatória no lado negativo da CP2 (*Darwinella* com *T. coccinea* parte interna e algas *turf* fronteira).

Através do gráfico de *loadings* (**Figura 3.5B**) é possível observar os picos dos cromatogramas responsáveis pela variação de cada componente da ACP, evidenciando assim quais os compostos são mais relevantes para a distribuição das amostras no gráfico dos escores. Nesta perspectiva, as substâncias não identificadas (12) (17) e (24) foram as mais importantes na separação dos grupos na CP1. Já a PC2, o Ácido Pentadecanoico (1) e as substâncias não identificadas (12) e (17) foram as mais importantes na separação dos grupos.

O teste estatístico realizado com a dispersão dos scores ocupado por cada amostra evidenciou que não existe diferença significativa entre os tratamentos

de todos os competidores (fronteira e parte interna) e os controles (ANOVA PC1

$F_{6,36} = 2,06$, $p = 0,08$ - PC2 $F_{6,35} = 1,80$, $p = 0,12$) (**Tabela 3.3**).

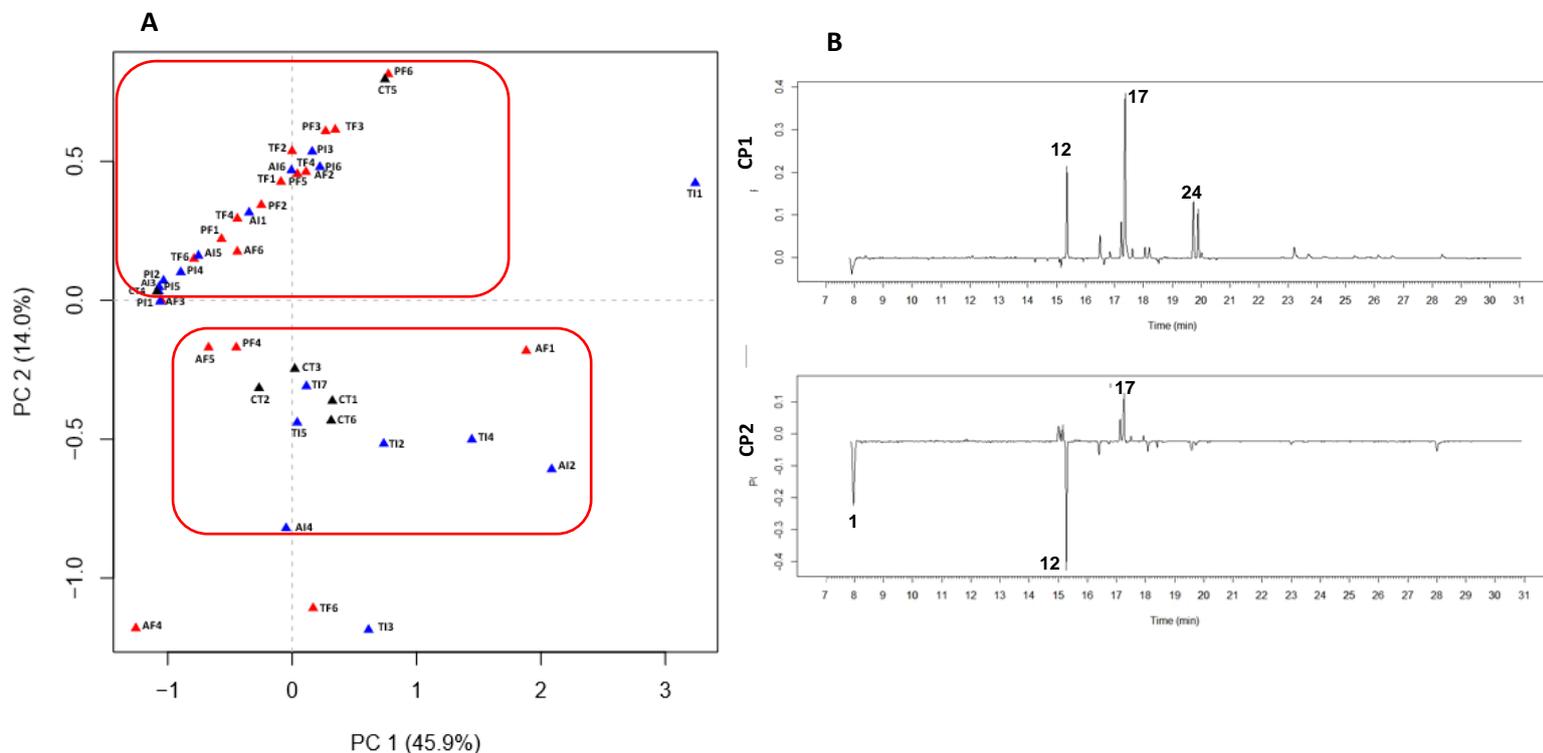


Figura 3.5 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. (controles e tratamentos) obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=45.9% e CP2=14.0%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), os símbolos em azul representam o tratamento parte interna (I) e os símbolos em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; TF: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea*; TI: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* parte interna; PF: *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* fronteira; PI: *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* parte interna; AF: *Darwinella* com alga turf fronteira; AI: *Darwinella* com alga turf parte interna.

Tabela 3.3 ANOVA para comparação entre os tratamentos com *Darwinella* sp. e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).

		<u>G.L</u>	<u>F</u>	<u>P</u>
CP1	Tratamentos	6	2,06	0,08
CP2	Tratamentos	6	1,80	0,12

3.4.2.2 Interação de *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum*

No gráfico de escores da ACP foi possível verificar que as duas componentes principais explicaram juntas 76,6% da variação cromatográfica total (CP1 = 56.6% e CP2 =17.2%) (**Figura 3.6A**). Na CP1, observou a formação de dois grupos, grande parte dos tratamentos referentes a parte interna ficaram agrupados no lado, enquanto o outro grupo, formado em sua maioria por amostras referentes aos controles e a fronteira ficou no lado positivo. Já na CP2 foi possível evidenciar a variabilidade nos perfis químicos entre tratamentos (I e F) e controles.

De acordo com os gráficos de *loading*, a substância não identificada (**17**) foi superior nos controles quando comparado ao demais tratamentos (F e I), sendo a principal responsável pela formação de dois grupos na CP1 (positivo e negativo) (**Figura 3.6B**). Na PC2, as substâncias não identificadas (**12**) e (**17**) foram as que mais contribuíram para a formação dos dois grupos da PC2 (positivo e negativo), sendo a primeira substância não identificada superior nos controles quando comparada aos tratamentos.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e os controles da CP 1 (ANOVA $F_{2,15}=1,45$, $p=0,26$). Por outro lado, os tratamentos e os controles, diferiram significativamente na CP2 (ANOVA $F_{2,15}=5,52$, $p=0,01$). O teste *a posteriori* de *Tukey* apontou diferenças significativas entre ambos os tratamentos de *Darwinella* sp. com *P. caribaeorum* e os controles ($p<0,05$) (**Figura 3.7 - Tabela 3.4**).

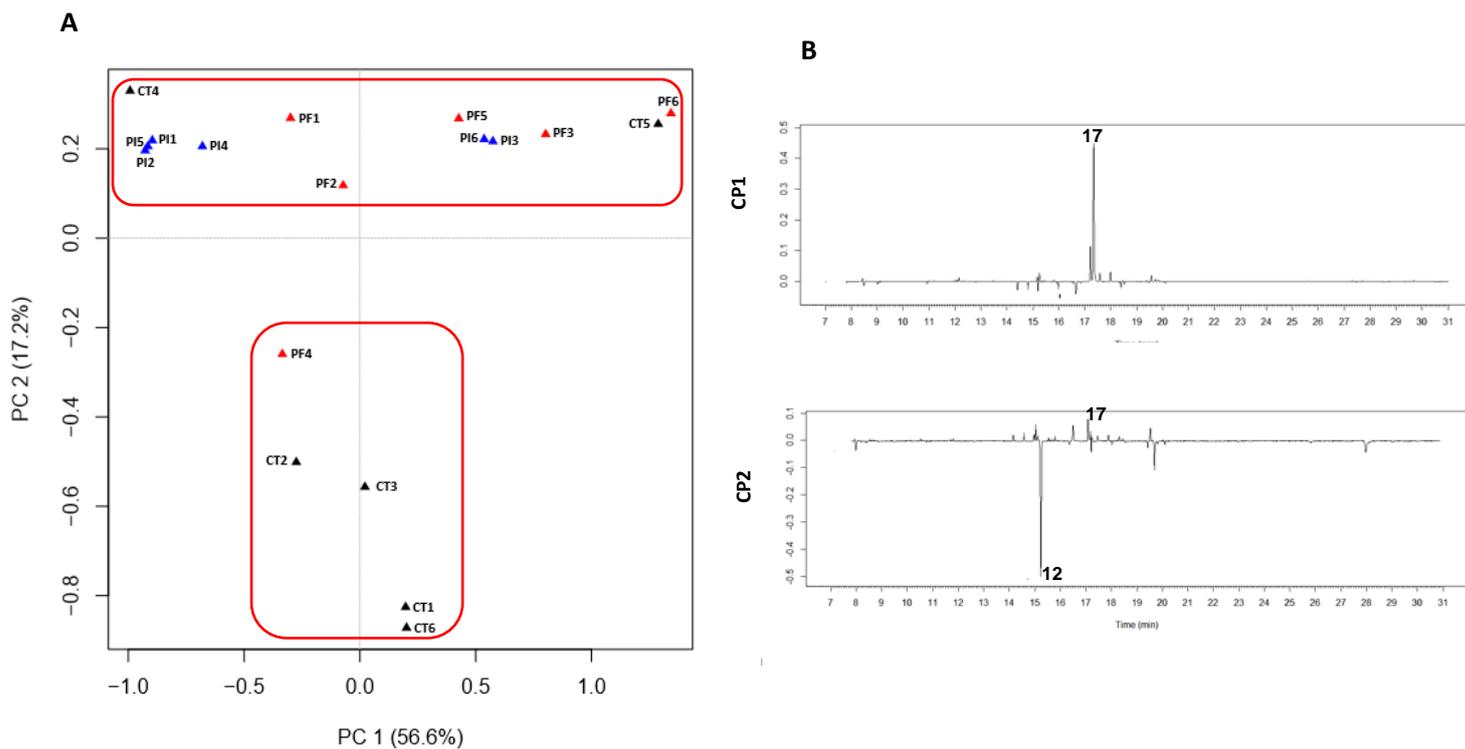


Figura 3.6 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=56.6% e CP2=17.2%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), em azul representam o tratamento parte interna (I) e em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; PF *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* fronteira; PI *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* parte interna.

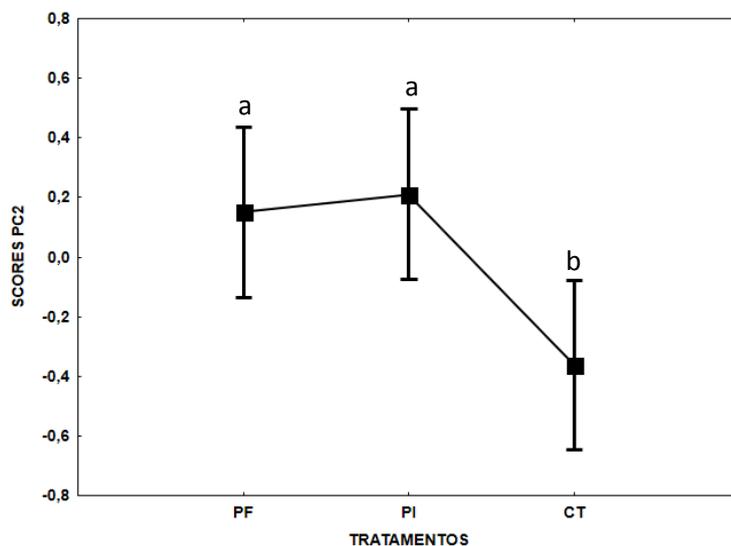


Figura 3.7 Scores da CP2 com os diferentes tratamentos. Legendas: CT: controle; PF *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* fronteira; PI *Darwinella* com *Palythoa caribaeorum* parte interna. Letras iguais foram usadas para identificar os grupos que não diferiram significativamente ($p \geq 0.05$).

Tabela 3.4 ANOVA para comparação entre os tratamentos de *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).

		G.L	F	p
CP1	Tratamentos	2	1,45	0,26
CP2	Tratamentos	2	5,52	0,01

3.4.2.3 Interação de *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea*

Os resultados obtidos pela ACP evidenciam que as duas componentes principais determinaram juntas 70,5% da variabilidade dos resultados. A primeira componente principal, CP1, explicou 50.9% dos resultados, enquanto a segunda componente 19.6%. Ao analisar a PC1 é possível observar a formação de um grande grupo do lado negativo, formado pelos controles, tratamentos fronteira e alguns tratamentos referentes a parte interna. Já no lado positivo, algumas amostras da parte interna ficaram distribuídas de forma aleatória. Por outro lado, na CP2, lado negativo observa-se o agrupamento dos tratamentos de fronteira, enquanto que no lado positivo da PC2, encontram -se os controles e os tratamentos da parte interna da esponja (**Figura 3.8A**).

Através do gráfico de *loadings* foi possível observar que as substâncias não identificadas (12), (17) e (24) contribuíram para a formação deste grande agrupamento na CP1. Na CP2, o gráfico de *loadings* mostrou que as substâncias não identificadas (12) e (17) foram responsáveis pela separação dos grupos no lado positivo (tratamentos da parte interna e controle) e negativo da CP2 (fronteira) (**Figura 3.8B**). A substância (12) foi encontrada em ambos os tratamentos e nos controles, entretanto, a sua área relativa foi inferior nos tratamentos da fronteira quando comparado aos demais grupos (parte interna e controle).

Estatisticamente não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos da CP1 (ANOVA $F_{2,15}=3,82$, $p=0,05$). No entanto, em relação aos tratamentos da CP2 essas diferenças foram detectadas (ANOVA $F_{2, 15}=4,64$, $p=0,02$). O teste *post hoc* de Tukey realizado na CP2 mostrou diferenças significativas entre os tratamentos de fronteira e parte interna ($p<0,05$) (Figura 3.9 – Tabela 3.5).

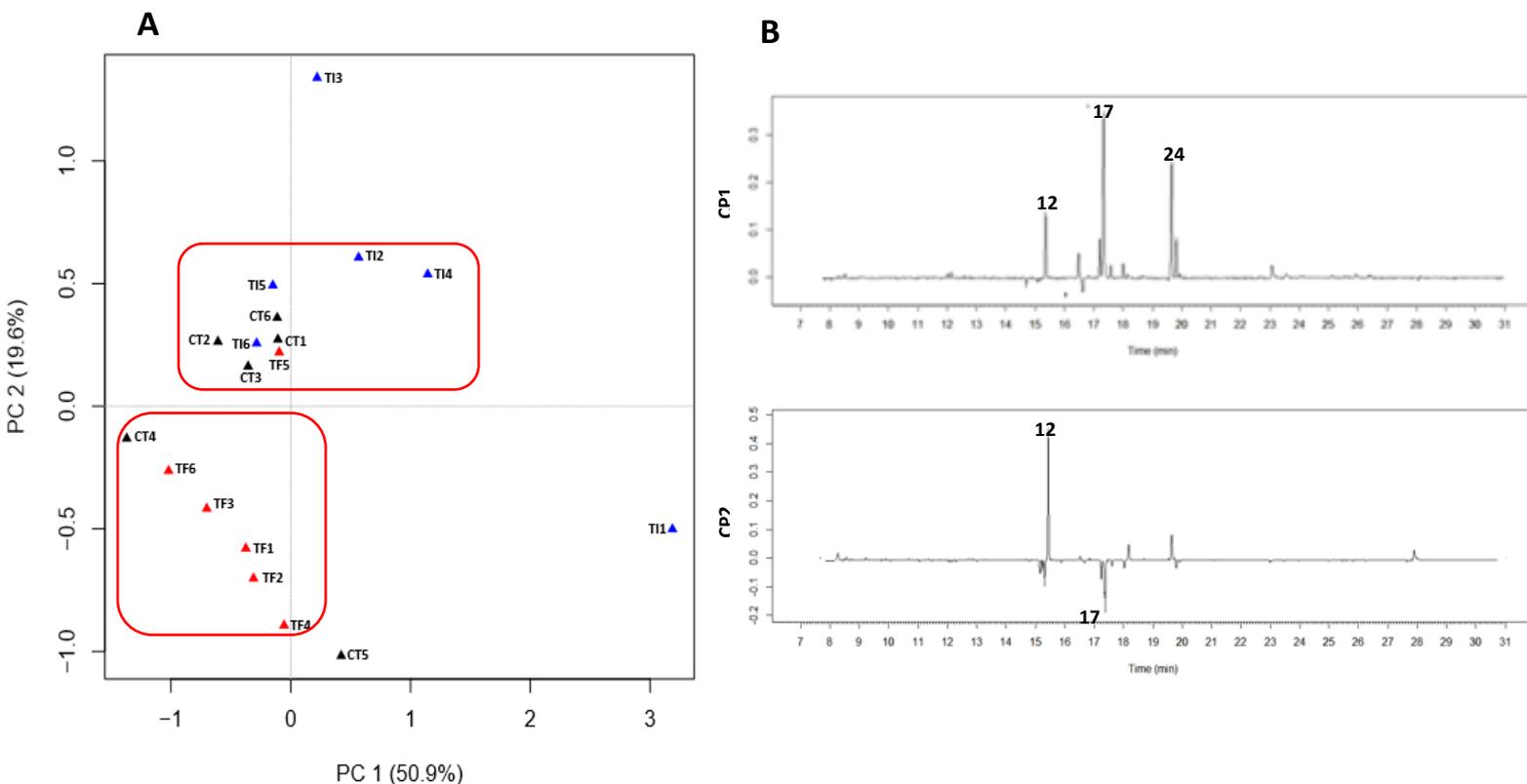


Figura 3.8 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=50.9% e CP2=19.6%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), em azul representam o tratamento parte interna (I) e em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; TF: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea*; TI: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* parte interna.

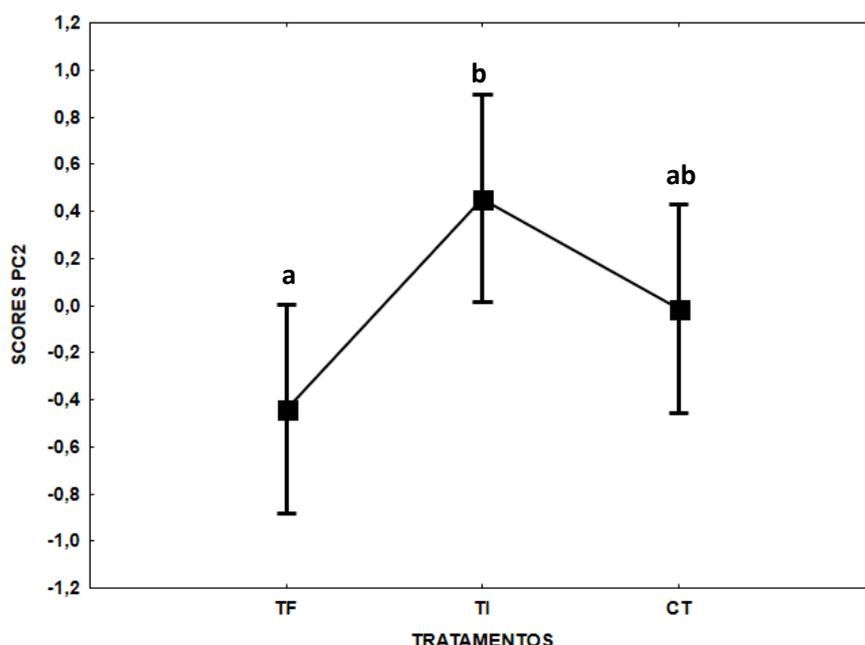


Figura 3.9 Scores da PC2 com os diferentes tratamentos. Legendas: CT: controle; TF: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea*; TI: *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* parte interna. Letras iguais foram usadas para identificar os grupos que não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$).

Tabela 3.5 ANOVA para comparação entre os tratamentos de *Darwinella* sp. com *Tubastraea coccinea* e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).

		G.L	F	p
CP1	Tratamentos	2	3,82	0,05
CP2	Tratamentos	2	4,64	0,02*

3.4.2.5 Interação de *Darwinella* sp. com algas turf

A ACP do grupo de *Darwinella* sp. com algas explicou 64,5% das variações cromatográficas totais, em que a CP1 contribuiu com 48,4% e a CP2 com 16,1% (**Figura 3.10A**). A CP1 agrupou grande parte das amostras no lado positivo. Já na CP2 foi possível evidenciar a similaridade entre os perfis químicos dos tratamentos (I e F) e controles, uma vez que, grande parte das amostras ficaram dispostas no lado positivo.

O gráfico de *loadings* da PC1 demonstra que as substâncias que mais contribuíram para separação desses dois grupos foram: ácido tridecanóico (**2**) e as substâncias não identificadas (**12**) e (**17**) e o hidrocarboneto (**24**). Essas substâncias foram presentes em todas as amostras, no entanto, a substância (**17**) foi mais abundante nas amostras referentes aos controles. Já para o gráfico de *loadings* da PC2 observou-se que o ácido tridecanóico (**2**) e a substância não identificada (**12**) foram responsáveis pela formação de um grande grupo no lado positivo, formado em sua maioria por grande parte dos tratamentos (F e I) e os controles (**Figura 3.10B**). Outras amostras ficaram distribuídas de forma aleatória no lado negativo da PC2.

Estatisticamente, em ambas as análises realizadas, CP1 e CP2, não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos (fronteira e parte interna) e controles (PC1: ANOVA $F_{2,15}=0,13$, $p=0,87$ – PC2: ANOVA $F_{2,15}=1,24$, $p=0,31$) (**Tabela 3.6**).

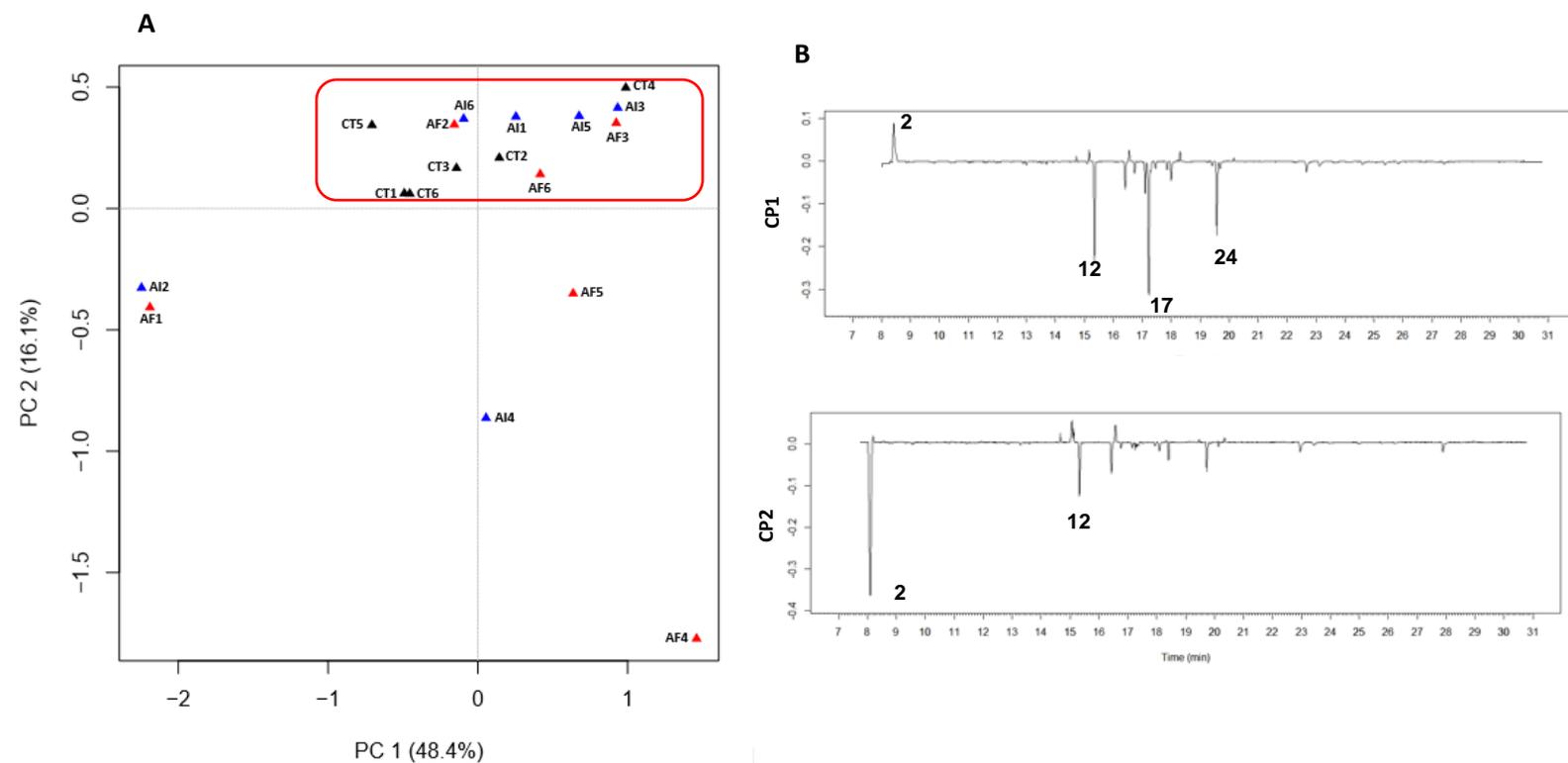


Figura 3.10 Em (A) scores evidenciando a inter-relação dos perfis químicos de *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM através da ACP (CP1=48.4% e CP2=16.1%). Em (B) peso do sinal do cromatograma na variação de CP1 e CP2 pelo tempo de retenção. Símbolos em vermelho representam o tratamento fronteira (F), em azul representam o tratamento parte interna (I) e em preto representam os controles (CT). Legendas: CT: controle; AF: *Darwinella* com algas *turf* fronteira; AI: *Darwinella* alga *turf* parte interna.

Tabela 3.6 ANOVA para comparação entre os tratamentos de *Darwinella* sp. com algas *turf* e os controles realizados com scores da CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP).

		G.L	F	p
CP1	Tratamentos	2	0,13	0,87
CP2	Tratamentos	2	1,24	0,31

3.5 DISCUSSÃO

No geral, os dados indicam que a produção e alocação de metabólitos secundários da esponja *Darwinella* sp. é estimulada, provavelmente, pela presença de competidores no costão rochoso, como observado quando em interação direta com *T. coccinea*, *P. caribaeorum* e algas *turf*. Em geral, no

presente estudo, observou-se a existência de uma variabilidade química disposta espacialmente em diferentes partes do tecido de *Darwinella* sp. (fronteira e parte interna) e pode ser indicativo de uma estratégia de defesa desenvolvida pela espécie.

Diversos estudos abordam que há uma maior produção ou acúmulo de metabólitos secundários em áreas periféricas das esponjas como uma estratégia de defesa, pois estas regiões, geralmente, estão mais suscetíveis a ação de predadores e competidores espaciais (Turon *et al.* 1996a; Becerro, e Starmer 1998; Schupp 1999, Cronin 2001; Page *et al.* 2005; de Caralt *et al.* 2013). Essas variações condizem com a Teoria de Defesa Ótima (ODT), e são descritas para esponjas do gênero *Aplysina* spp. (Turon *et al.* 2000); assim como para as espécies *Crambe crambe* (Becerro *et al.* 1998), *Rhopaloeides odorabile* (Thompson *et al.* 1987), *Latrunculia apicalis* (Furrow *et al.* 2003), *Magnifica negombata* (Gillor *et al.* 2000); e *Oceanapia* sp. (Schupp 1999). Similarmente, De Caralt *et al.* (2013) verificou, por exemplo, uma maior produção do metabólito secundário Avarol na região periférica da esponja *Dysidea avara* quando comparado a base. O avarol é um terpeno com alto valor terapêutico (ex. quimioterapia) e que apresenta atividade anti-HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) significativa (Machado 2019).

Do ponto de vista da ODT, para *Darwinella* sp. esperava-se uma maior produção de substâncias na camada externa (ou periférica) devido ao contato direto, exposição ou proximidade com os competidores. Contudo, no presente estudo, ao comparar o perfil químico entre as diferentes áreas dos tecidos de *Darwinella* sp. (fronteira e interna) foi possível observar que o acúmulo de substâncias químicas na parte interna da esponja quando próxima ao coral *T. coccinea* e algas *turf*. Freeman e Gleason (2012) também observaram resultados

semelhantes ao do presente estudo para *esponja Ircinia felix*, onde a produção de metabólitos secundários foi superior na parte interna quando comparado a região periférica, enquanto uma distribuição homogênea de compostos químicos foi observada em ambas as áreas da esponja *Ircinia campana*. Segundo o autor, tal diferença pode estar relacionada a diferentes fatores, como por exemplo, defesa contra organismos competidores, defesa contra predadores específicos, redução da incrustação ou mesmo inibição de uma infecção microbiana.

Já a produção de substâncias foi similar entre a área de fronteira e parte interna dos tecidos de *Darwinella* sp. quando próxima de *P. caribaeorum* no costão rochoso. Porém, a diferença química encontrada entre os tratamentos e controles sugere que a presença do antozoário pode influenciar na resposta química de *Darwinella* sp.. Por exemplo, a substância (12) (TR = 15.27) foi responsável pela separação dos grupos controle e tratamento na PC2 de *Darwinella* sp. com *P. caribaeorum*, sendo mais abundante nos controles quando comparado aos tratamentos com o antozoário. Apesar de ainda não identificada, sua possível estrutura se assemelha à classes dos esteróis, considerando o perfil de fragmentação obtido pelo espectrômetro de massas. Os esteróis constituem uma das classes de substâncias mais abundantes em esponjas marinhas (Teixeira 2009), conhecidos por desempenharem papel principal na composição de membranas celulares (metabolismo primário) e funções fisiológicas. Além disso, atuam também na defesa contra predadores (Ribeiro 2012; Fleury *et al.* 2008a; Morinaka *et al.* 2009) e incrustação (Guenther *et al.* 2009). Por outro lado, as substâncias 2,3-Hexanediol (6) e Hexane, 2,3,5-trimethyl (8), por exemplo, foram ausentes nas amostras do controle e presente em ambas as amostras com *Palythoa*. Essas substâncias tratam se respectivamente de alcaloides e substâncias nitrogenadas, considerados importantes metabólitos secundários

que atuam na defesa contra consumidores e competidores (Pawlik *et al.* 1995; Lindel *et al.* 2000).

Em Arraial do Cabo, *P. caribaeorum* é abundante e ocupa cerca de 50% do substrato consolidado disponível (Oliveira 2005), sendo considerado como um forte competidor, capaz de matar organismos mesmo na zona do médio-litoral inferior, como algas coralinas articuladas (*Amphiroa* e *Jania* sp.) e *Isognomon bicolor* (Mendonça-Neto e Da Gama, 2009). Embora seja conhecido por produzirem substâncias bioativas como a palytoxina (PTX), composto altamente eficaz contra predadores, competidores e com ação antiincrustante (Moore e Scheuer 1971; Guilhem *et al.* 2020), seu efeito não parece ser prejudicial para *Darwinella* sp.. No presente estudo, o coral baba de boi *P. caribaeorum* foi comumente visto crescendo sobre parte do tecido da esponja *Darwinella* sp., contudo, não foi detectado efeito letal, tal como: descoloração ou necrose da esponja (observação pessoal). Similarmente, McLean e Yoshioka (2008) investigaram o crescimento e a sobrevivência da esponja *Desmapsamma anchorata* quando próximo ao *P. caribaeorum* e a presença de um também não afetou negativamente o outro e vice-versa. Os autores descreveram esta interação como impasse ou *standoff*, pois não foram observadas descolorações ou necrose em ambos os organismos. Por outro lado, já foi observado também que a esponja *Cinachyrella* cf. *cavernosa* pode variar em até 88% na produção de metabólito secundário bsitosterol (esterol citotóxico) quando na presença e ausência de *Zoanthus sansibaricus* (mesma ordem de *P. caribaeorum*) e que este feito pode causar branqueamento do zoantídeo devido à expulsão de redução no número e na densidade de zooxantelas simbiótica (Singh e Thakur 2021). No presente estudo, este metabólito secundário não foi detectado nos extratos relativos aos tratamentos da interação da esponja *Darwinella* sp. com o antozoário

P. caribaeorum e nem nos controles. No entanto, b-sitosterol (28) foi observado nos extratos de *Darwinella* com *T. coccinea* e algas (com abundância $\leq 1\%$). Este composto b-sitosterol é relatado em outras espécies de esponjas marinhas (Lawson *et al.* 1988) e também comum em plantas (Saeidnia *et al.* 2014) onde atua como aleloquímico contra insetos, dificultando seu crescimento e desenvolvimento (Mukherjee 2003).

Outro invertebrado visto comumente em interação com *Darwinella* é o coral invasor *T. coccinea*. Os extratos de tecidos de *Darwinella* sp. em interação com coral mostraram diferença química entre os tratamentos (fronteira e parte interna). No total, a quantidade de substâncias foi maior na área interna do tecido da esponja, por exemplo, o ácido graxo (Ácido hexadecanóico (4)) e o alcaloide (2,3-Hexanediol (6)), foram detectados apenas nesta área. Além disso, os esteróis Cholesterol (26) e b-sitosterol (28) foram encontrados em maior abundância na parte interna da esponja. Do ponto de vista ecológico estas substâncias desempenham funções primárias relacionados a manutenção fisiológica, e secundárias relacionadas a defesa do organismo, como atividade antiincrustante e antipredação (Lee *et al.* 2007; Berlink *et al.* 2007). Dessa maneira, a maior abundância de esteróis e a presença exclusiva de substâncias (ácido graxo e alcaloide) em sua área interna pode sugerir uma produção da esponja relacionada a sua manutenção fisiológica (investimento). Em contrapartida, a substância mais abundante na fronteira exibe similaridade a classe dos terpenos, e este pode ser um indicativo de defesa da esponja em relação a presença do coral.

Assim como os esteróis, os terpenos são metabólitos secundários amplamente difundidos nos ambientes marinhos, encontrados em algas, corais e em esponjas (Gershenson *et al.* 2007). Como compostos bioativos, os terpenos atuam na defesa dos organismos, desempenham função antiincrustante

(Tsoukatou *et al.* 2002), anti predação e até como respostas a processos infecciosos (Keyzers *et al.* 2006). Além disso, são substâncias que apresentam uma variedade de atividades farmacológicas com ação antiparasitária (Chianese *et al.* 2017), antifúngica, antibacteriana e antimicrobiana (Pawlik *et al.* 2002). Constituem uma classe de produtos naturais marinhos com grande diversidade estrutural e para qual, até o momento, verifica-se o maior número de substâncias descritas, com aproximadamente 50.000 estruturas de terpeno relatadas (Moghaddam *et al.* 2020).

Geralmente, os trabalhos que abordam as interações competitivas entre corais do gênero *Tubastraea* com organismos da comunidade bentônica destacam o alto potencial da espécie invasora. São relatados efeitos danosos ou deletérios ocasionados pela presença do coral sol, já que pode eliminar concorrentes através de mecanismos físicos e químicos de defesa e acarretar prejuízos à comunidade estabelecida no local (De Paula 2007; Lages 2012; Santos 2013; Hennessey e Sammarco 2014). Por exemplo, já foram observados necrose ou descoloração de tecidos quando em contato com o coral mole *Ricordea florida*, a anêmona *Epicystis crucifer*, e o antozoário *Palythoa caribaeorum* (De Paula 2007; Lages 2012; Santos 2013; Hennessey e Sammarco 2014; Guilhem *et al.* 2020). De Paula (2007) e Santos (2013) registraram necrose tecidual no coral endêmico *Mussismilia hispida* em distâncias de até cinco centímetros do coral sol. Estes efeitos negativos ocasionados pela presença de *Tubastraea* para outras localidades nunca foram descritos ou observados para a esponja *Darwinella* sp. em Arraial do Cabo (Sant' Anna, 2016). Segundo esta autora, não foram observados necrose ou danos nos tecidos de *Darwinella* sp. tanto em contato direto com o coral *T. coccinea*, quanto a dois centímetros de distância e a presença do coral não foi capaz de inibir o crescimento da esponja

e vice-versa. Até o presente momento, só há relato de uma única espécie de esponja (*Desmapsamma anchorata*) capaz de provocar necrose e morte de *T. coccinea* através do sobrecrecimento e sufocamento do coral (Meurer *et al.* 2010). Silva *et al.* (2017) atribui o sucesso desta esponja nas interações competitivas devido ao seu rápido crescimento, produção de compostos bioativos altamente eficazes contra os seus vizinhos e a sua plasticidade morfológica que permite modificar sua forma de crescimento de acordo com o habitat e morfologia do competidor. Lages *et al.* (2012) observou através de experimentos de competição entre *D. anchorata* e o coral invasor, que a presença da esponja induzia a produção de alcaloides nos tecidos do coral.

Dentre todos os organismos estudados neste trabalho, a interação entre a esponja *Darwinella* e as algas *turf* que estavam em contato nos costões rochosos foi a única que não demonstrou diferenças químicas entre os controles e os tratamentos. O resultado encontrado sugere que a presença das algas possivelmente não influencie no perfil químico da esponja *Darwinella* sp. Apesar disso, de acordo com as substâncias encontradas na tabela obtida pelo CG-EM foi possível observar o maior acúmulo de substâncias na área interna da esponja, quando comparado a área de fronteira.

As relações envolvendo algas também são complexas e os resultados da interação dependem das condições ambientais disponíveis e da identidade dos organismos que estão interagindo (González Riveiro *et al.* 2011; Easson *et al.* 2014). De acordo com a literatura, a interação de algas com esponjas pode resultar em situações *standoff* (empate), como relatado por Deshpande *et al.* (2021), que utilizou a transcriptômica para investigar os efeitos de competição interespecífica entre *Cinachyrella* cf. *cavernosa* e *Dictyota ciliolata*, verificando que a presença da macroalga não prejudicou a esponja. Efeitos negativos

ocasionados pela interação entre algas, pode resultar na redução da taxa de crescimento e prejudicar na fisiologia das esponjas (González-Riveiro *et al.* 2012; Easson *et al.* 2014). Além disso, as interações entre algas e esponjas podem ser benéficas, quando ambos os grupos oferecem proteção contra distúrbios físicos e ação de predadores (Ávila e Carballo 2007).

Outro aspecto importante é que as interações entre espécies bentônicas de substratos consolidados não são limitadas a apenas um organismo. González-Rivero *et al.* (2011) demonstrou, através de modelos matemáticos, que as relações multiespécies que pode existir entre esponjas, algas e corais em comunidades bentônicas de substratos consolidados, por exemplo, podem alterar a hierarquia competitiva de um sistema. Na ausência de esponjas, os corais e algas entram em um tipo de interação estacionária alternativa, onde o crescimento dos corais muitas vezes pode depender da taxa de herbivoria das algas. No cenário em que os três organismos interagem, os resultados demonstram o protagonismo das esponjas na dinâmica desses ecossistemas.

Dessa maneira, a partir do presente estudo foi possível verificar que a interação entre a esponja *Darwinella* sp. e organismos competidores nos costões rochosos podem influenciar o potencial de resposta química da esponja. Os resultados também sugerem que possivelmente pode haver seleção para alocar defesas químicas tanto para os tecidos de fronteira quanto para e tecidos internos, dependendo da identidade desses competidores. Esses mecanismos podem apresentar vantagens a esponja, aumentando a sua habilidade em se estabelecer nas mais diversas comunidades bentônicas. Este resultado também nos permite compreender de maneira mais eficaz as estratégias utilizadas pela esponja *Darwinella* sp. para garantir o sucesso do seu estabelecimento e abundância na região de Arraial do Cabo até os dias atuais.

3.6 CONCLUSÃO

- O perfil químico da esponja *Darwinella* sp. pode variar de acordo com a espécie concorrente no substrato consolidado.
- A alocação de metabolitos secundários pode variar nas diferentes áreas do tecido da esponja *Darwinella* sp.
- Os extratos das amostras coletadas nos tecidos (parte interna e fronteira) de *Darwinella* com *Palythoa* apresentaram semelhanças químicas.
- Os extratos das amostras de *Darwinella* com *Tubastraea coccinea* fronteira e parte interna foram quimicamente distintos.
- Os extratos das amostras de *Darwinella* com algas *turf* não apresentaram diferenças químicas.
- As substâncias majoritárias que pertencem a classe dos terpenos e esteróis e o hidrocarboneto Pentacyclo[9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)] dodecane, 3,6,6,9,9,12,12-octamethyl-, anti,syn,anti foram encontradas em todas as interações da esponja *Darwinella* sp. com os três competidores: o coral invasor *Tubastraea coccinea*, ao antozoário *Palythoa caribaeorum* e a algas *turf*, inclusive nos controles.
- Dentre os extratos referentes a fronteira, as amostras da esponja *Darwinella* sp. com o coral *Tubastraea coccinea* foram os que apresentaram a menor abundância de substâncias químicas.
- Dentre os extratos referentes a parte interna, as amostras da esponja *Darwinella* sp. com o coral *Tubastraea coccinea* foram os que apresentaram a maior abundância de substâncias químicas.
- As amostras referentes aos controles apresentaram o menor número de substâncias, quando comparada com todas as outras amostras do estudo.

ANEXO B

INTENSIDADE X 10⁵

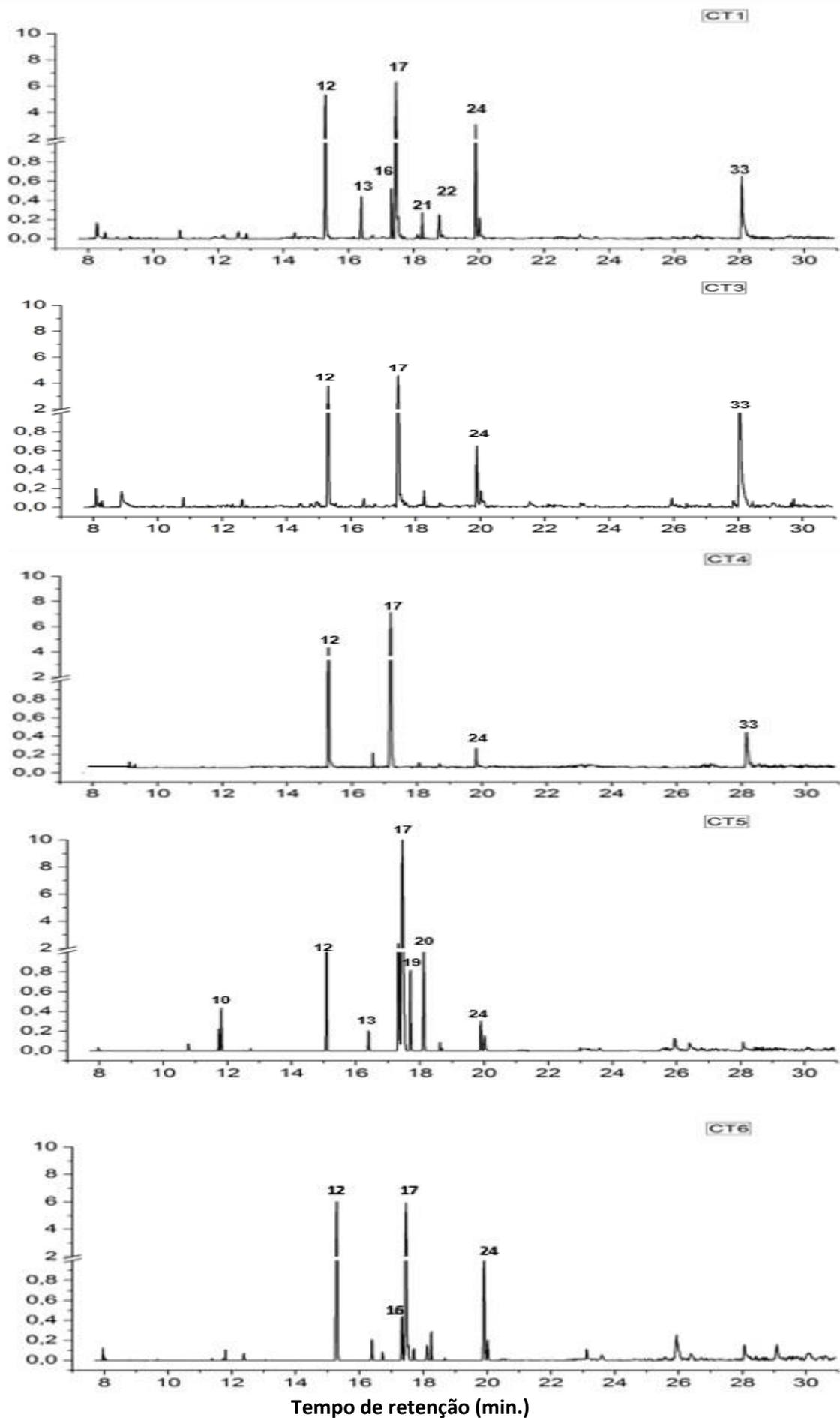
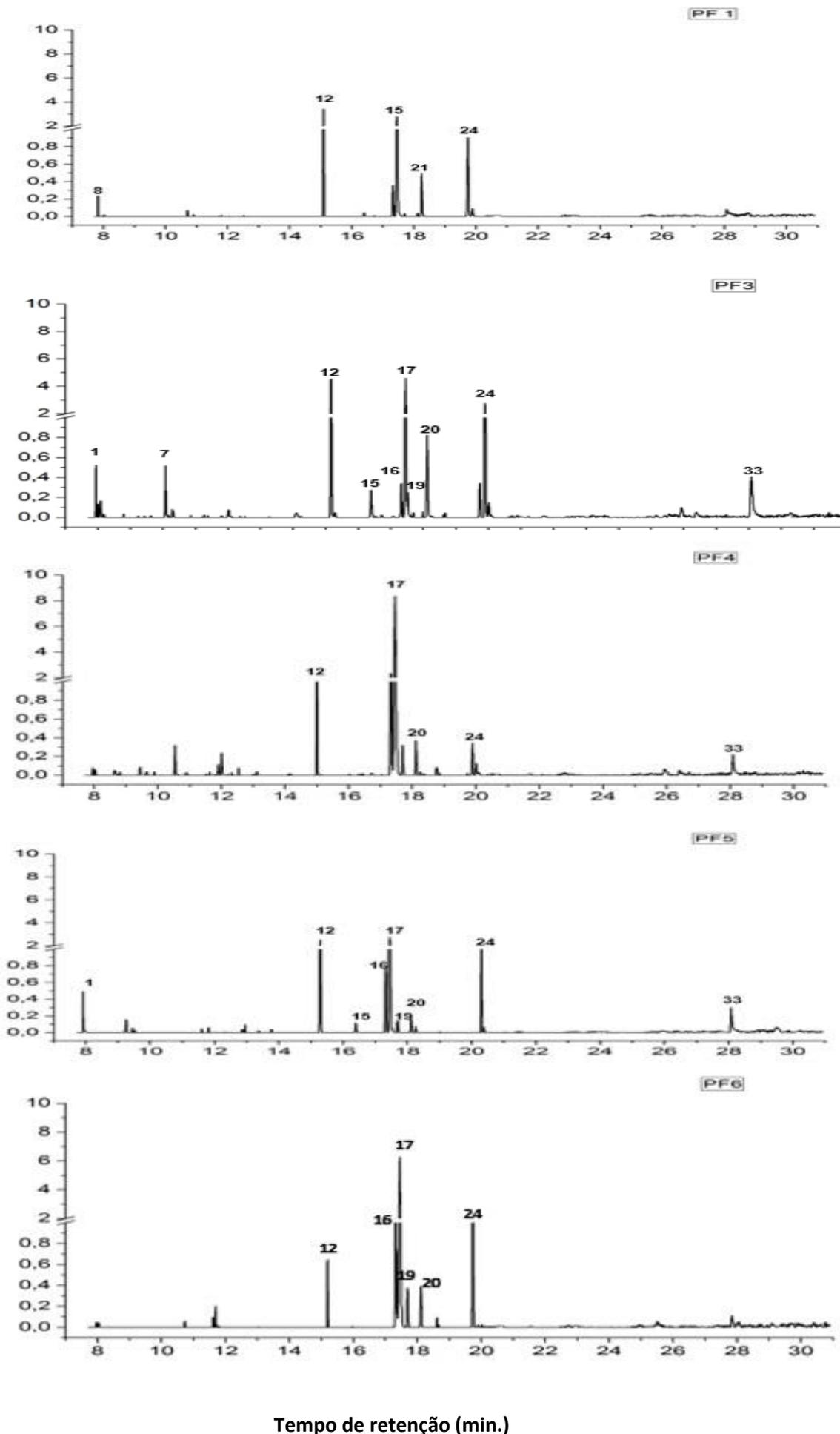


Figura B1. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras do Controle (CT): (CT1); (CT3), (CT4), (CT5) E (CT6).

INTENSIDADE X 10⁵



Tempo de retenção (min.)

Figura B2. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras dos tratamentos *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* fronteira: (PF1), (PF3), (PF4), (PF5) e (PF6).

INTENSIDADE X 10⁵

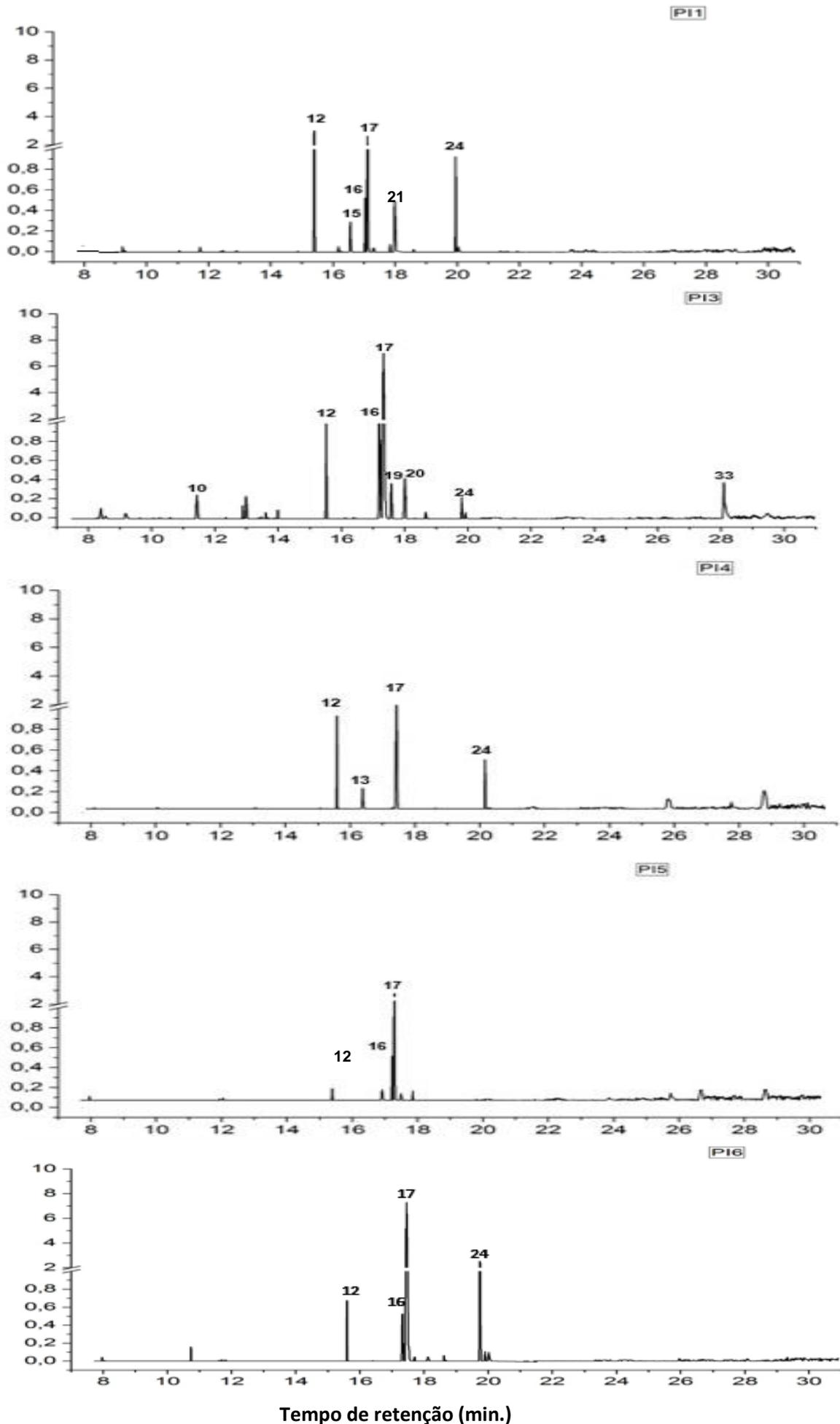


Figura B3. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras dos tratamentos *Darwinella* sp. com *Palythoa caribaeorum* parte interna: (PI1), (PI3), (PI4), (PI5) E (PI6).

INTENSIDADE X 10⁵

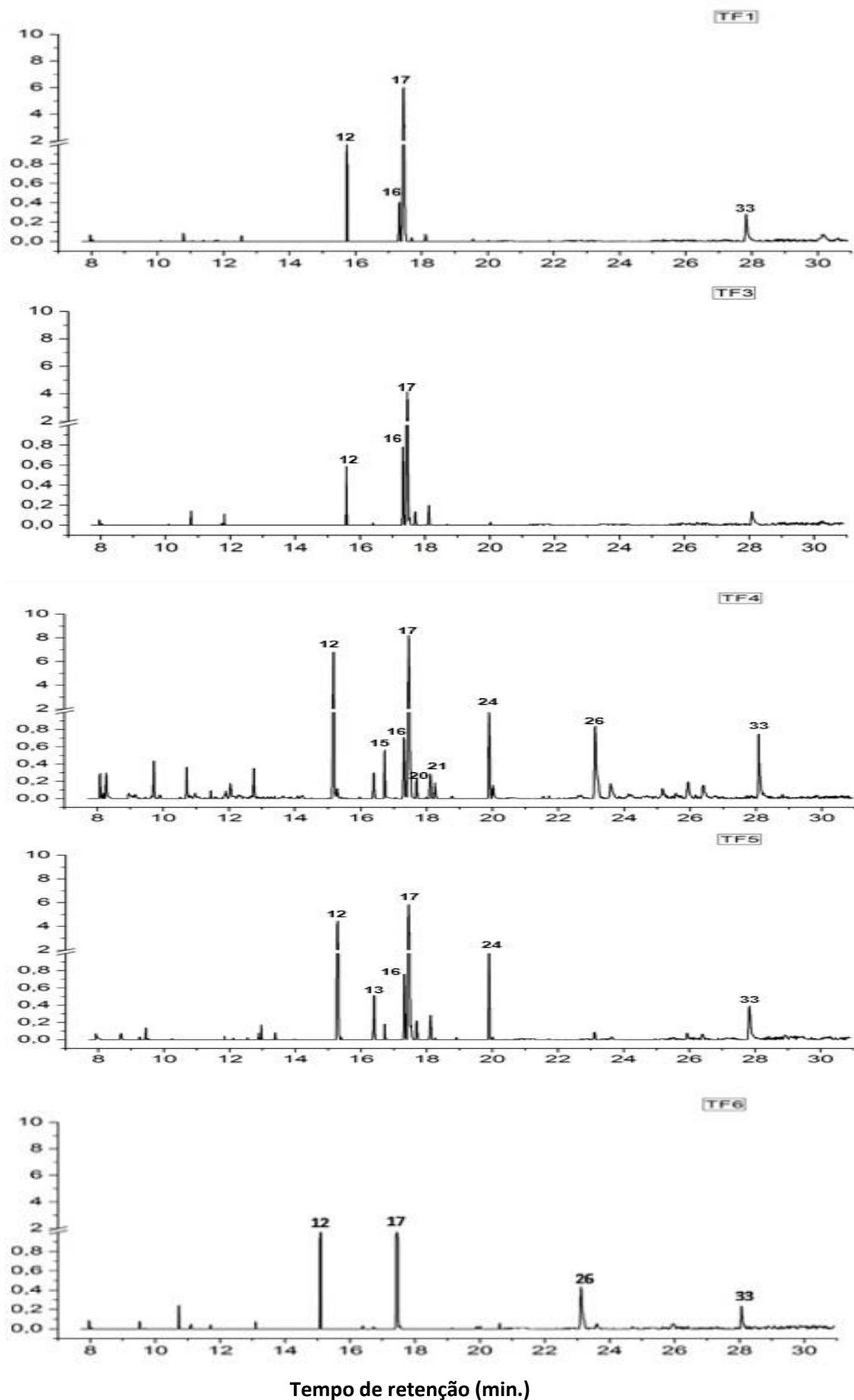
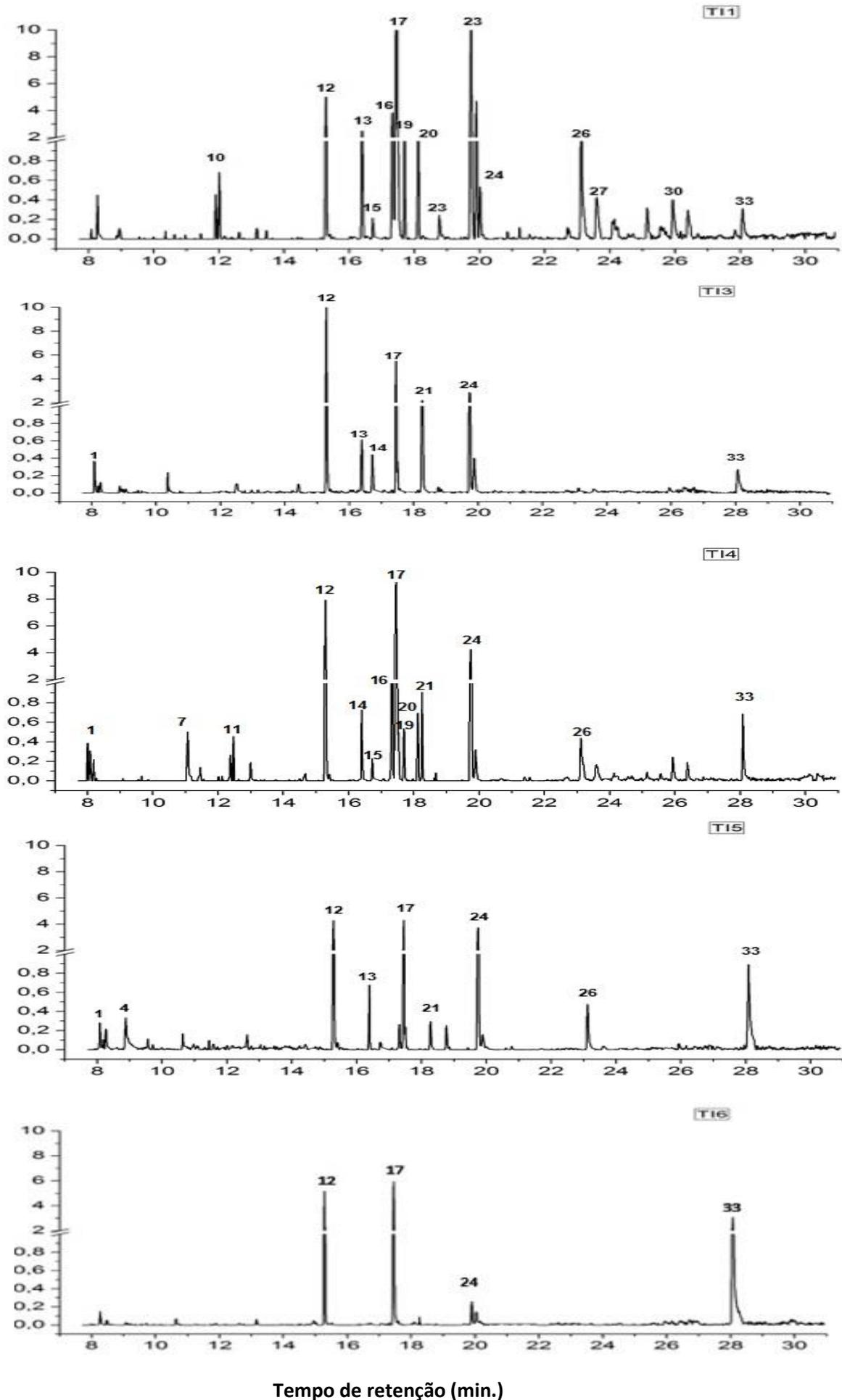


Figura B4. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras dos tratamentos *Darwinella* sp. com *Tabastraea coccinea* fronteira: (TF1), (TF2), (TF3), (TF4), (TF5) e (TF6).

INTENSIDADE X 10⁵



Tempo de retenção (min.)

Figura B5. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras dos tratamentos *Darwinella* sp. com *Tabastraea coccinea* parte interna: (T11), (T13), (T14), (T15) E (T16).

INTENSIDADE X 10⁵

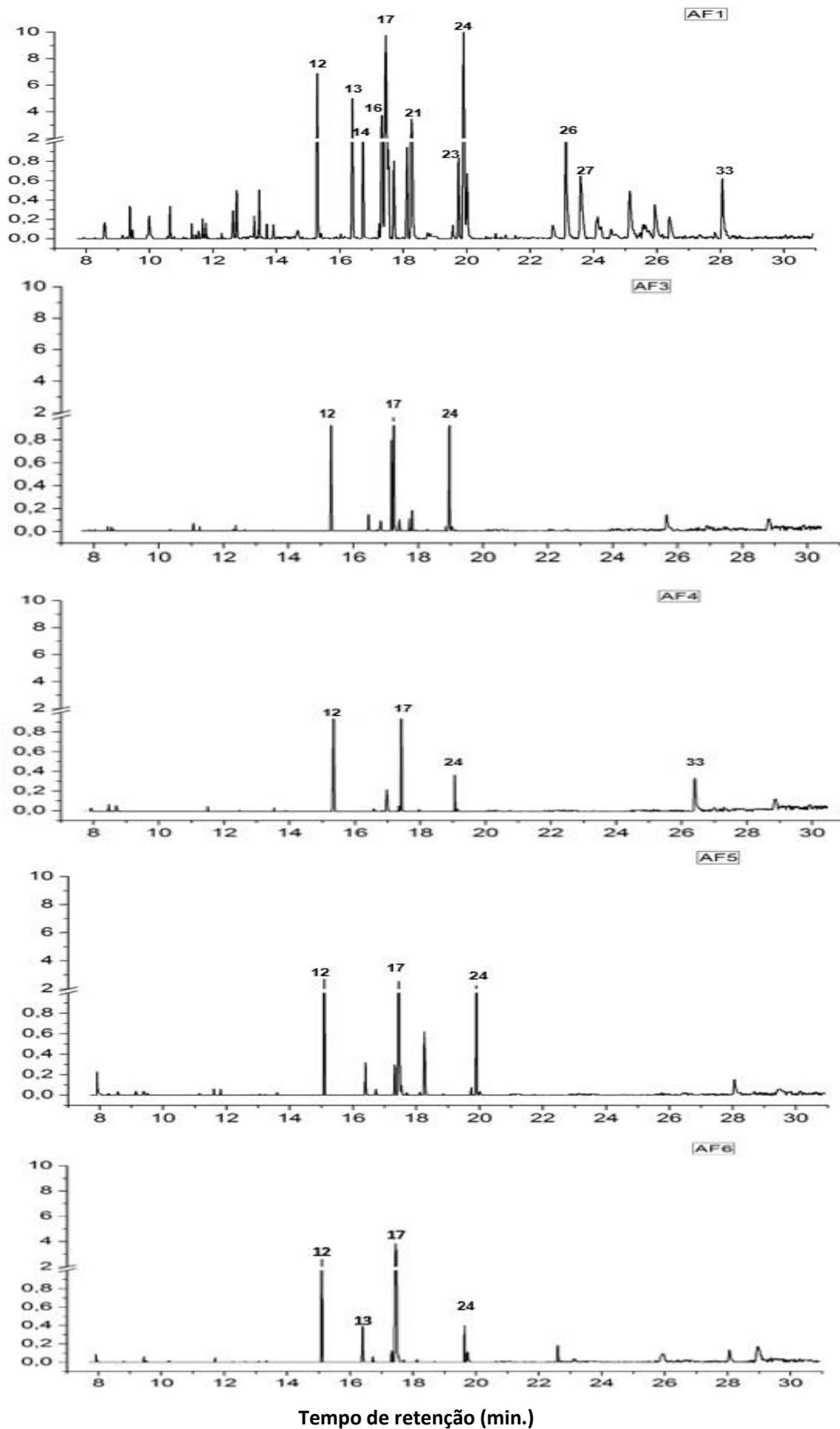


Figura B6. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras dos tratamentos *Darwinella* sp. com algas *turf* fronteira: (AF1), (AF3), (AF4), (AF5) e (AF6).

INTENSIDADE X 10⁵

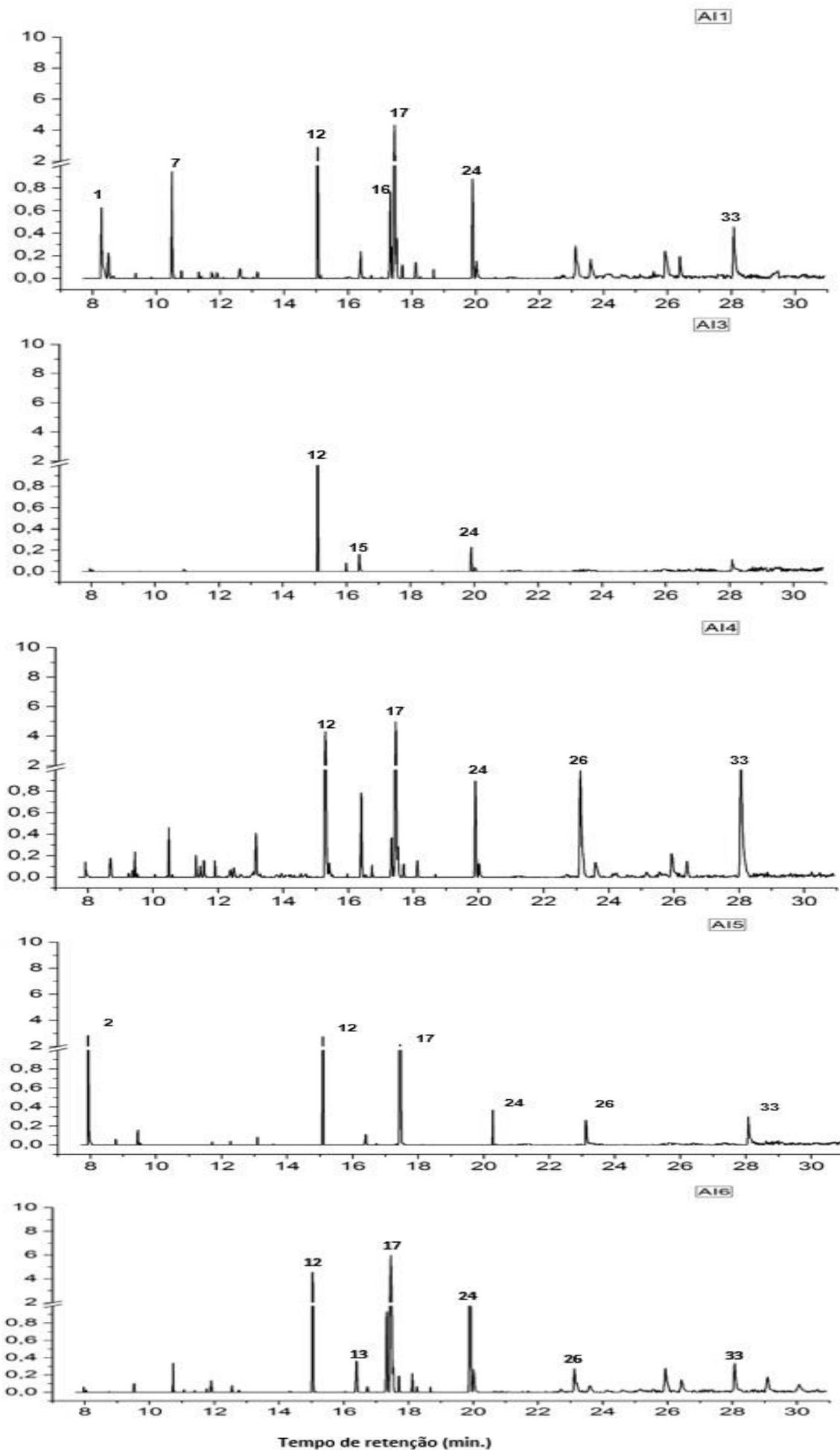


Figura B7. Cromatogramas dos extratos da esponja *Darwinella* sp. obtidos por CG-EM. Extratos referentes as amostras dos tratamentos *Darwinella* sp. com algas *turf* parte interna: (AI1), (AI3), (AI4), (AI5) E (AI6).

3.7 REFERÊNCIAS

AERTS, L.A.M.; VAN SOEST, R.W.M. Quantification of sponge/coral interactions in a physically stressed reef community, NE Colombia. **Marine Ecology Progress Series**, v. 148, p. 125-134, 1997.

Arnold, S.N.; Steneck, R.; Mumby, P.J. Running the gauntlet: inhibitory effects of algal turfs on the processes of coral recruitment. **Marine Ecology Progress Series**, v. 414- 91, 2010.

Aust. J. Chem., 1997, 50, 895–902 The Constituents of Marine Sponges. VIII† Minor Diterpenoid Metabolites of *Aplysilla rosea* and *A. var. sulphurea* Walter C. Taylor and Stephen Toth School of Chemistry, University of Sydney, N.S.W. 2006.

ÁVILA, E.; CARBALLO, J.L.; CRUZ-BARRAZA, J.A. Symbiotic relationships between sponges and other oranim from te ea of orte (eican acic coast): same problems, same solutions. **Porifera research: Biodiversity, innovation and sustainability**, 2007.

BATISTA, D.; GONÇALVES, J. E.A.; MESSANO, H.F.; ALTVATER, L.; CANDELLA, R.; CALIL, L. M.; MESSANO, L.V.R.; APOLINÁRIO, M.; COUTINHO, R. 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, nº 1, p. 23–32, 2017.

BECERRO, M.A.; PAUL, V.J; STARMER, J. Intracolony variation in chemical defenses of the sponge *Cacospongia* sp. and its consequences on generalist fish predators and the specialist nudibranch predator *Glossodoris pallida*. **Marine Ecology Progress Series**, v.168, p. 187-196, 1998.

BELL, J.J. The functional roles of marine sponges. **Estuarine Coastal Shelf Science**, v. 79, p. 341–353, 2008.

BERGQUIST, P.R.; KARUSO, P.; CAMBIE, R.C.; SMITH, D.J. Sterol Composition and Classification of the Porifera. **Biochemica/Systematics and Ecology**, v. 19, n. 1, p. 17-24, 1991.

CALADO, L.; SOUTELINO R.G.; CANABARRO, D.; GONZALEZ RODRIGUEZ, E. Capítulo 1. 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.: 16-47.

CHIANESE, G.; SILBER, J.; LUCIANO, P.; MERTEN, C.; ERPENBECK, D.; TOPALOGU, B.; KAISER, M.; TASDEMIR, D. Antiprotozoal Linear Furanosesterterpenoids from the Marine Sponge *Ircinia oros*. **Journal of natural Products**, v.80, n. 9, p. 2566–2571, 2017.

CRONIN, G. Resource allocation in seaweeds and marine invertebrates: Chemical defense patterns in relation to defence theories. In **Marine Chemical Ecology**; New York, NY, USA, p. 325–353, 2001.

DE CARALT, S.; BRY, D.; BONTEMPS, N., TURON, X.; URIZ, M.J.; BANAIG, B. Sources of Secondary Metabolite Variation in *Dysidea avara* (Porifera: Demospongiae): The Importance of Having Good Neighbors. **Marine Drugs**, v. 11, p. 489-503, 2013.

DE CARALT, S.; URIZ, M. J.; WIJFFELS, R. H. Grazing, differential size-class dynamics and survival of the Mediterranean sponge *Corticium candelabrum*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 360, p. 97–106, 2008.

De Paula, A.F. Biologia reprodutiva, crescimento e competição dos corais invasores *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* (Scleractinia: Dendrophylliidae) com espécies nativas. Dissertação, **Universidade Federal do Rio de Janeiro**. 2007.

DESHPANDE, A.; RIVERA-VICENS, R.E.; THAKUR, N.; WORHEIDE, GERT. Transcriptomic response of *Cinachyrella* cf. *cavernosa* sponges to spatial competition, 2021.

DI CAMILLO, C.G.; BARTOLUCCI, I.; CERRANO, C.; BAVESTRELLO, G. Sponge disease in the Adriatic Sea. **Marine Ecology**, v. 34, n.1, p. 62-71, 2012.

Easson, C.G.; Marc Slattery; David M. Baker⁴, Deborah J. Gochfeld. Complex ecological associations: competition and facilitation in a sponge–algal interaction. **Marine Ecology Progress Series**, v. 507, p. 153–167, 2014.

FERREIRA, C.E.L. Non-indigenous corals at marginal sites. **Coral Reefs**, v. 22, p. 498, 2003.

FERREIRA, C.E.L.; GONÇALVES, J.E.A.; COUTINHO, R. Ship hulls and oil platforms as potential vectors to marine species introduction. **Journal of Coastal Research**, v. 39, p. 1341-1346, 2006.

FERREIRA, C.E.L.; GONÇALVES, J.E.A.; COUTINHO, R. Community structure of fishes and habitat complexity in a tropical rocky shore. **Environmental Fish Biology Journal**, v.61, p.353-369, 2001.

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

FREEMAN, C.J.; GLEASON, D.F. Does concentrating chemical defenses within specific regions of marine sponges result in enhanced protection from predators. Sponge research developments **Hydrobiologia**, v. 687, p. 289–297, 2012.

FURROW, F.B.; AMSLER, C.D.; MCCLINTOCK, J.B.; BAKER, B.J. Surface sequestration of chemical feeding deterrents in the Antarctic sponge *Latrunculia apicalis* as an optimal defense against sea star spongivory. **Marine Biology**, v.143, p. 443–449, 2003.

GARRABOU, J.; COMA, R.; SOUSSAN, B.; BALLY, M.; CHEVALDONNE, P. *et al.* Mass mortality in Northwestern Mediterranean rocky benthic communities: effects of the 2003 heat wave. **Global Change Biology**, v. 15, p. 1090–1103, 2009.

GILLOR, O.; CARMELI, S.; RAHAMIM, Y. *et al.* Immunolocalization of the toxin Latrunculin B within the red sea sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae). **Marine Biotechnology**, v. 2, p. 213–223, 2000.

GONZÁLEZ-RIVERO, M.; FERRARI, R.; SCHÖNBERG, C.H.; MUMBY, P.J. Impacts of macroalgal competition and parrotfish predation on the growth of a common bioeroding sponge. **Marine Ecology Progress Series**, v. 444, p. 133–142, 2012.

GONZÁLEZ-RIVERO, M.; YAKOB, L.; MUMBY, P.J. The role of sponge competition on coral reef alternative steady states. **Ecological Modelling**, v. 222, p. 1847–1853, 2011.

GRANTHOM-COSTA, L.V., FERREIRA, C.G.W., DIAS, G.M. Biodiversity of ascidians in a heterogeneous bay from southeastern Brazil. **Management of Biological Invasions**, v. 7, n.1, p. 5-12, 2016.

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

GUILHEM, I.F.; MASI, B.P.; CREED, J.C. Impact of invasive *Tubastraea* spp. (Cnidaria: Anthozoa) on the growth of the space dominating tropical rocky-shore zoantharian *Palythoa caribaeorum* (Duchassaing and Michelotti, 18. **Aquatic Invasions**, v.15, n. 1, p. 98–113, 2020.

HARVELL, C.D. The ecology an evolution of inducible defenses. **The quarterly review of biology**, v. 65, p. 323-341, 1990.

HENNESSEY, S.; SAMMARCO, P.W. Competition for space in two invasive IndoPacific corals –*Tubastraea micranthus* and *Tubastraea coccinea*: Laboratory experimentation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 459, p 144–150, 2014.

HEY, M.E.; STEINBERG, P.D. The chemical ecology of plant herbivore interactions in marine versus terrestrial communities. In *Herbivores: Their Interaction with Secondary Metabolites, Evolutionary and Ecological Processes*. Ed. **J.A Rosenthal**, **Academic Press**, v. 2, p. 371-413, 1992.

HILL, M.S. Spongivory on Caribbean reefs releases corals from competition with sponges. **Oecologia**, v. 117, 143-150, 1998.

HOPPE, W.F. Growth, regeneration and predation in 3 species of large coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series**, v. 50, p. 117–125, 1988.

KEYZERS, R.A.; NORTHCOTE, P.T.; DAVIES-COLEMAN, M.T. Spongian diterpenoids from marine sponges. The Royal Society of Chemistry. **Natural Product Reports**, v. 23, p.321–334. 2006.

KOOPMANS, M.; WIJFFELS, R.H. Seasonal Growth Rate of the Sponge *Haliclona oculata* (Demospongiae: Haplosclerida). *Marine Biotechnology*, v. 10, p. 502–510, 2008.

Kuffner Paul V, I, Walters L, Ritson-Williams R, Beach K, Becerro M () Chemically mediated interactions between macroalgae *Dictyota* spp. and multiple life-history stages of the coral *Porites astreoides*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 426, p.161–170, 2011.

LAGES, B.G.; FLEURY, B.G.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M.; PINTO, A.C.; CREED, J.C. Proximity to competitors change secondary metabolites of nonindigenous cup corals, *Tubastraea* spp., in the southwest Atlantic. **Marine Biology**, v. 159, p. 1551-1559, 2012.

LAGES, B.G.; FLEURY, B.G.; PINTO, A.C.; CREED, J.C. Chemical defenses against generalist fish predators and fouling organisms in two invasive ahermatypic corals in the genus *Tubastraea*. **Marine Ecology**, v. 3, p. 473–482, 2010.

LAWSON, M.P.; STOILOV, I.L.; THOMPSON, J.E.; DJERASSI, C. Cell membrane localization of sterols with conventional and unusual side chains in two marine demonsponges. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 23, n. 8, p. 750–754, 1988.

LEONG, W.; PAWLIK, J.R. Comparison of reproductive patterns among 7 Caribbean sponge species does not reveal a resource trade-off with chemical defenses. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 401, n. 1–2, p. 80-84, 2011.

LEONG, W.; PAWLIK, J.R. Evidence of a resource trade-off between growth and chemical defenses among Caribbean coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series**, v. 406, p. 71–78, 2010.

LORDERS, F.L.; MIRANDA, R.J.; NUNES, J.A.C.; BARROS, F. Spongivory by fishes on southwestern Atlantic coral reefs: no evidence of top-down control on sponge assemblages. **Frontiers in Marine Science**, v. 5, p. 256, 2018.

MEURER, B.C.; LAGES, N.S.; PEREIRA, A.O.; PALHANO, S.; MAGALHÃES, G.M. First record of native species of sponge overgrowing invasive corals *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis* in Brazil. **Mar. Biod. Recor**, v. 3, p. 1-3, 2010.

MOGHADDAM, J.A.; JAUTZUS, T.; ALANJARY, M.; BEEMELMANN, C. Recent highlights of biosynthetic studies on marine natural products. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 7, p. 34-12, 2020.

MOLNAR, J.L.; GAMBOA, R.L.; REVENGA, C.; SPALDING, M.D. Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. **Front. Ecol. Environ.**, v. 6, p. 485-492, 2008.

MOORE, R.E.; SCHEUER, P.J. Palytoxin: a new marine toxin from a coelenterate. **Science**, v. 172: p. 495–498, 1971.

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

MUKHERJEE, S. Influence of plant allelochemicals on growth rate, nutritional physiology and mid-gut esterase activity in fifth instar larvae of *Spodoptera litura* (F.)(Lepidoptera: Noctuidae). **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 43, n.2, p.125–132, 2003.

MURICY, G., 1989. Sponges as pollution-biomonitoring at Arraial do Cabo, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia** 49: 347-354.

MURICY, G.; LOPES, D.A.; HAJDU, E.; CARVALHO, M.S.; MORAES, F.C.; KLAUTAU, M.; MENEGOLA, C.; PINHEIRO, U. Catalogue of Brazilian Porifera. *Museu Nacional, Série Livros*, 300 pp. 2011.

OLINGER, L.K.; CHAVES-FONNEGRA, A.; ENOCHS, I.C.; BRANDT, M.E. Three competitors in three dimensions: photogrammetry reveals rapid overgrowth of coral during multispecies competition with sponges and algae. **Marine Ecology Progress Series**, v.657, p. 109-121, 2021.

OLINGER, L.K.; SCOTT, A.R.; MCMURRAY, S.E.; PAWLIK, J.R. Growth estimates of Caribbean reef sponges on a shipwreck using 3D photogrammetry. **Sci Rep**, v. 9, p. 1–12, 2019.

OLIVEIRA, F.S.; LANNA, E. Population dynamics of three species of the genus *Aplysina* (Porifera, Demospongiae, Verongiida) in a tropical bay in the Western Atlantic Ocean. **Marine Biodiversity**, v. 52, n. 20, 2022.

OLIVEIRA, J.A.S.; PEREIRA, R.C.; NOCCHI, N.; SOARES, A.R. Spatio-temporal variability of secondary metabolites in the invasive coral *Tubastraea coccinea*. **Aquatic Invasions**, v. 17, 2022.

OLIVEIRA, M.A.L. Branqueamento em *Palythoa caribaeorum*: caracterização microbiológica e ecologia química. **Programa de Pós-graduação em Biologia Marinha**. Universidade Federal Fluminense, 113pp, 2005.

PACHECO, C.; CARBALLO, J.L.; CORTÉS, J.; SEGOVIA, J.; TREJO, A. Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and a faunistic record. **Zootaxa**, v.4370, n.5,p. 451–491, 2018.

PAGE, M.J.; NORTHCOTE, P.T.; WEBB, V.L.; MACKEY, S.; HANDLEY, S. J. Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida). **Aquacult.**, v. 250, p. 256–269, 2005.

PAWLIK, J.R., LOH, T.L., MCMURRAY, S.E. A review of bottom-up vs. top-down control of sponges on Caribbean fore-reefs: what's old, what's new, and future directions. **PeerJ**, v. 6, 2018.

PAWLIK, J.R., MCFALL, G.; ZEA, S. Does the Odor from Sponges of the Genus *Ircinia* Protect Them from Fish Predators? **Journal Chemical Ecology**, v. 28, p.1103–1115, 2002.

PAWLIK, J.R.; MCMURRAY, S.E. Annual Review of Marine Science The Emerging Ecological and Biogeochemical Importance of Sponges on Coral Reefs. **The Annual Review of Marine Science**, v. 12, p.31–33, 2020.

PÉREZ, T.; DÍAZ, M.C; RUIZ, C.;CÓNDOR-LUJÁN, B.; KLAUTAU, M.; HAJDU, E. How a collaborative integrated taxonomic effort has trained new spongiologists and improved knowledge of Martinique Island (French Antilles, eastern Caribbean Sea) marine biodiversity. **PLoS ONE**, v. 12, n.3, 2017.

RAMÍREZ, M.C.A. Terpenos rearranjados da esponja *Darwinella* cf. *oxeata* com potencial leishmanicida. 2015. 112f. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de São Paulo: São Paulo, 2015.

RHODES, S.; SCHUUP, P.J. allocation oh chemical and structural defenses in the sponge *Melophus sarasinorum*. **Journal of experimental Marine Biology and Ecology**, v. 399, p.76-83. 2011.

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

SACRISTÁN-SORIANO, O.; BANAIGS, B.; BECERRO, M.A. Temporal Trends in the Secondary Metabolite Production of the Sponge *Aplysina aerophoba*. **Marine Drugs**, v.10, p. 677-693, 2012.

SAEIDNIA, S.; MANAYI, A.; GOHARI, A.R.; ABDOLLAHI, M. The story of beta-sitosterol-a review. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 4, n.5, p.590, 2014.

SANT' ANNA, K. M. Interações competitivas entre a esponja *Darwinella* cf. *oxeata* e o coral invasor *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829 na região de Arraial do Cabo, RJ/**Dissertação de mestrado**, p. 127, 2016.

SANTOS, L.D, RIBEIRO, F.V, CREED, J.C. Antagonism between invasive pest corals *Tubastraea* spp. and the native reef-builder *Mussismilia hispida* in the southwest Atlantic. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 449, p. 69–76, 2013.

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

Selegim, M.H.R.; Lira, S.P.; Kossuga, M.H.; Batista, T., Berlinck, R.G.; Hajdu, E.; Muricy, G. Antibiotic, cytotoxic and enzyme inhibitory activity of crude extracts from Brazilian marine invertebrates. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 3, p. 287-318, 2007.

SILVA, A. G. Vivendo com o inimigo: competição entre os corais invasores *Tubastraea* spp. e a esponja *Desmapsamma anchorata* na Baía de Ilha Grande, RJ. 2014. 107f. **Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução)** – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

SILVA, A.G., FORTUNATO, H.F.M., LÔBO-HAJDU, G. Response of native marine sponges to invasive *Tubastraea* corals: a case study. **Marine Biology**, v. 164, p. 78, 2017.

SILVA, A.G.; LIMA, R.P.; GOMES, N.A.; FLEURY, B.G.; CREED, J.C. Expansion of the invasive corals *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis* into the Tamoios Ecological Station Marine Protected Area, Brazil. **Aquatic Invasions**, v.6, n.1, p. 105–110, 2011.

SINGH, A.; THAKUR, N.L. Allelopathic interaction among rocky intertidal invertebrates: sponge *Cinachyrella* cf. *cavernosa* and zooxanthellate zoanthids *Zoanthus sansibaricus*. **Hydrobiologia**, v. 848, p. 4647–4659, 2021.

TEIXEIRA, V.L. Produtos Naturais marinhos. *In*: Pereira, R.C.; Soares-Gomes, A. (Org.) **Biologia marinha. Editora Interciência**, Rio de Janeiro. 2009.

THOMPSON, J.E.; MURPHY, P.T.; BERQUIST, P.R.; EVANS, E.A. Environmentally induced variation in diterpene composition of the marine sponge *Rhopaloeides odorabile*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.15, n. 5, p. 595-606, 1987.

TOPSENT, E. Etude sur les Dendroceratina. **Archives de Zoologie experimentale et genera le**, v. 4, n. 3, 1905.

TSOUKATO, M.; HELLIO, C.; VAGIAS, C.; HARVALA, C.; ROUSSIS, V. Chemical Defense and Antifouling Activity of Three Mediterranean Sponges of the Genus *Ircinia*. **Zeitschrift für Naturforschung C** , v. 57, n. 1-2, 2002.

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

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

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

WULFF, J. Ecological Interactions and the Distribution, Abundance, and Diversity of Sponges. **Advances in Marine Biology**, v. 61, p. 273-344. 2012.

WULFF, L.J. Targeted predator defenses of sponges shape community organization and tropical marine ecosystem function. **Journal: Ecological Monographs**, v.91, n. 2, 2020.

WYEDENMAYER, F. Demospongiae (Porifera) from Northern Bass Strait, southern Australia. **Memoirs of the Museum of Victoria**, v. 50, n.1.p. 1-242, 1989.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A expansão da esponja *Darwinella* sp. nos costões rochosos da Baía do Arraial do Cabo ocorreu concomitantemente com a expansão da cidade de Arraial do Cabo. A atividade turística cresceu exponencialmente e, com isso, o número de frota de barcos de turismo e a população local acompanhou esse crescimento para atender a alta demanda. Dessa maneira, é possível esperar também uma redução na qualidade d'água e no aumento de impactos ambientais sobre *Darwinella* sp. e toda a comunidade bentônica, ocasionado pelos lançamentos de lixo, esgoto, sedimentação, entre outros. Assim, é possível sugerir que *Darwinella* sp. seja uma espécie tolerante a essas variações ambientais. Somado a isso, este estudo também observou que o crescimento de *Darwinella* sp. não é diretamente influenciada pela temperatura da água do mar, ou seja, a ação da ressurgência na região não limita a distribuição da espécie na região de Arraial do Cabo. Além disso, este estudo observou que a esponja dispõe de diferentes estratégias químicas de defesa diante de diferentes competidores, o que também pode estar favorecendo sua expansão na baía. A ação de metabólitos secundários permite a permanência da esponja no substrato consolidado, assim como, proporciona a sua manutenção fisiológica. Então, saber a respeito da ecologia e química de *Darwinella* sp. contribuiu para melhor entendimento do papel da espécie e da interação com outros organismos no ambiente onde habita, além de compreender os fatores que permitem perpetuação da espécie até os dias atuais.