

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,
Algas e Plantas

Bruno Briani de Paula

**AMINOÁCIDOS DO TIPO MICOSPORINA EM MACROALGAS
VERMELHAS AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA: OCORRÊNCIA,
VARIAÇÃO E RELAÇÕES COM FATORES ABIÓTICOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção de Grau de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Orientador: Prof. Dr. José Bonomi Barufi

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Briani de Paula, Bruno
AMINOÁCIDOS DO TIPO MICOSPORINA EM MACROALGAS
VERMELHAS AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA: OCORRÊNCIA,
VARIAÇÃO E RELAÇÕES COM FATORES ABIÓTICOS / Bruno
Briani de Paula ; orientador, José Bonomi Barufi,
2017.

89 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas,
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,
Algas e Plantas, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. Algas
Vermelhas. 3. Aminoácidos tipo micosporina. 4.
Fatores ambientais. 5. Ecologia. I. Bonomi Barufi,
José . II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,
Algas e Plantas. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Bruno Briani de Paula

**AMINOÁCIDOS DO TIPO MICOSPORINA EM MACROALGAS
VERMELHAS AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA: OCORRÊNCIA,
VARIAÇÃO E RELAÇÕES COM FATORES ABIÓTICOS**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de
“mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Florianópolis, 31 de Maio de 2017

Prof. Dr. Elisandro Ricardo Dreschler dos Santos
Coordenador PPGFAP

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Bonomi Barufi (presidente)
Departamento de Botânica
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a. Dr.^a Leila Hayashi
Departamento de Aquicultura
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Carlos Frederico Deluqui Gurgel
Departamento de Botânica
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a. Dr.^a Nadine Schubert
Departamento de Geociência
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Felipe Tiago Jesus. Que alegria nossa casa, comida boa, convivência saudável, empatia pelo bem, foste um grande irmão e será sempre que nos reencontrarmos.

Al grande profesor José, por la paciencia, también por despertar la capacidad de desenvolvimiento del pensamiento y voluntad para investigar y cuestionar la biología.

Nacho, Hermano malagueño! Sobre las clases de botánica en su huerto e por la vivencia activa con las ricas colectas de legumbres, calabazas, pimientos, hierbas, frutos, granadas, castañas, tomates, aceitunas, avocados, caquis, mandarinas y el té con la fresca y esplendida hierba luisa del mediterráneo. Sobre la regeneración de los bosques de ahí y sobre cultivar la tierra con mucho selo. Un grande abrazo tío. Gracia a ti, Hermano!

Félix Figueroa, muchas gracias por todo el tiempo que estuve en La Universidad de Málaga. Gracias por los momentos de discusión sobre la investigación y el auxilio en el desarrollo ecológico del estudio.

Ao ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade) pela oportunidade de pesquisa no Atol das Rocas. Fred Osório, chefe da expedição, me ensinaste muita coisa! Foi das maiores vivências da minha vida! Valeu pelos mergulhos, pelo apoio científico, e pelas aulas *in natura*.

A todos aqueles que participaram das coletas e do trabalho de alguma maneira.

A CAPES pela disponibilidade de bolsa e ao CNPq pelo apoio financeiro através do projeto Universal.

RESUMO

Os aminoácidos tipo micosporina (MAAs) são produtos do metabolismo secundário sintetizados por produtores primários sendo as macroalgas vermelhas aqueles em que são detectadas as maiores concentrações. MAAs estão presentes em diferentes organismos da cadeia trófica marinha com função fisiológica relacionada à proteção celular contra o excesso de radiação ultravioleta no ambiente e ao stress oxidativo. Sua concentração nos organismos tem sido relacionada a disponibilidade de nitrogênio inorgânico, a radiação ultravioleta e a fração aul de PAR. O Brasil tem uma região costeira com cerca de 8000 km onde uma série de fatores abióticos interagem criando diferentes feições físico-químicas que influenciam a fisiologia das algas de diferentes formas. Considerando as variações das características abióticas da costa brasileira, o objetivo deste trabalho foi relacionar a concentração de MAAs as diferentes condições ambientais. Para tanto, as amostras foram coletadas considerando um gradiente latitudinal de 3°S a 28°S em 23 pontos diferentes ao longo da costa brasileira durante o verão de 2015. O conteúdo de MAAs foi analisado em 39 espécies de Rhodophytas facilmente encontradas na zona intertidal durante a maré baixa. Com os dados abióticos do Bio-ORACLE, relacionamos a concentração e o tipo de MAA com diferentes preditores ambientais, sendo nitrato, fosfato, temperatura superficial da água do mar e pH, os principais fatores de influência no conteúdo de MAAs considerando todas as espécies. Para *Hypnea musciformis*, detectamos um padrão de maiores concentrações de MAAs nos espécimes das regiões sub tropicais. Ademais, detectamos pela primeira vez a ocorrência de MAAs em diversas espécies de macroalgas vermelhas, além de trazer novas abordagens a respeito da influência de fatores abióticos no conteúdo de MAAs das algas vermelhas no ambiente natural.

Palavras-chave: Algas vermelhas, aminoácidos tipo micosporina, resposta ecológica, correlações.

ABSTRACT

Mycosporine-like amino acids (MAAs) are products of secondary metabolism, synthesized by primary producers and present in organisms at the highest levels of the marine trophic chain. Red macroalgae are those, in which consistently high amounts have been detected throughout the world. MAAs are substances with physiological function, related to cellular protection against excessive ultraviolet radiation and oxidative stress. Their concentration in organisms has been related to ultraviolet radiation and availability of inorganic nitrogen. Brazil has a coastal region with about 8000 km, where a series of abiotic factors interact creating different physical-chemical features that influence the physiology of algae in different ways. Considering the variations of the abiotic characteristics along Brazilian coast, the objective of this work was to relate the concentration of MAAs in red algae species to different environmental conditions. Therefore, samples were collected considering a latitudinal gradient from 3°S to 28°S at 23 points along the Brazilian coast during summer of 2015. The content of MAAs was analyzed in 39 species easily found in the intertidal zone during low tide. We correlated the concentration and type of MAA with environmental data from Bio-ORACLE. We identified nitrate, phosphate, sea surface temperature and pH as the main factors influencing the content of MAAs. In the species *Hypnea musciformis*, we detected a pattern of higher concentrations of MAAs in specimens from warm temperate regions, which are further away from the equator. In addition, we detected for the first time the occurrence of MAAs in several species of red seaweeds and we applied a new approach that allows identifying the influence of abiotic factors on the MAA content of red algae in natural environments.

Key-words: Red seaweeds, mycosporine-like amino acids, ecological response, correlations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Perfil de absorção espectral de cinco aminoácidos do tipo micosporina comumente encontrados em algas marinhas, e também sua respectiva fórmula estrutural.

Figura 2.1. Cluster hierárquico de 23 locais na costa brasileira baseado nas variáveis abióticas que incidem em cada ponto demarcado no Mapa da Costa Brasileira. Os números nos nós indicam o suporte estatístico (probabilidades de *bootstrap*) de AU % (*approximately unbiased*). Clusters com AU \geq 95% são delimitados por retângulos nas respectivas sub-regiões. Ilhas Oceânicas (IO), Nordeste (NE), Sudeste (SE) e Sul (S). O traçado delimita a linha de corte. As regiões Tropical e subtropical representam os principais eixos macro ecológicos, claramente discernidos em duas províncias biogeográficas da costa brasileira.

Figura 2.2. Concentração de MAAs nas 39 espécies coletadas nas diferentes sub-regiões. Os valores são expressados em mg MAA g⁻¹ DW, seguindo a ordem dos maiores para os menores valores médios. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste a *posteriori* de Duncan ($p < 0,05$). A quantidade de asteriscos indica as diferenças significativas entre as sub-regiões observadas com o teste a *posteriori* de Newman-Keuls. O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região proposta, e é indicado entre parêntesis ao final do nome das espécies para cada local. As barras indicam os desvios padrão.

Figura 2.3. Fração dos tipos de MAAs em relação ao total para cada sub-região, delimitadas conforme análise apresentada na Figura. São representadas as 4 sub-regiões e 4 tipos de MAAs. Ilhas Oceânicas (n=18), Nordeste (n=162), Sudeste (n= 125) e Sul (n=134).

Figura 2.4. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Shinorina nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas

observadas com o teste a posteriori de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

Figura 2.5. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Palitina nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste a posteriori de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

Figura 2.6. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Asterina-330 nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

Figura 2.7. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Porphyra-334 nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

Figura 2.8. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais que incidem sobre os 23 pontos de coleta. Os nomes das praias estão descritos em preto na parte central da figura. A intensidade das variáveis ambientais está de acordo com o comprimento da flecha. Os valores das 441 análises da concentração de MAAs estão plotados em azul e se agrupam às características ambientais das regiões sul e sudeste da costa brasileira.

Figura 2.9. Análise de componentes principais para indivíduos e para as variáveis abióticas + MAAs referentes aos valores de

concentração dos espécimes das regiões Nordeste (NE) e nas Ilhas Oceânicas (IO). É possível observar a distância entre as espécies com os valores de concentração de MAAs das ilhas oceânicas se comparadas ao Nordeste. Os valores de MAAs são indicados em conformidade com os valores de IUV e pH mais altos. A variabilidade para os dois eixos principais foi de 50,3% e 30,9%. n=182.

Figura 2.10. Análise de componentes principais para indivíduos e para as variáveis abióticas + MAAs referentes aos valores de concentração dos espécimes das regiões Sudeste (SE) e Sul (S). É possível observar a distância entre as espécies com os valores de concentração de MAAs duas sub-regiões. Os valores de MAAs são indicados em conformidade com os valores de IUV e nitrato mais altos. A variabilidade para os dois eixos principais foi de 48,6% e 20,3%. n=259.

Figura 3.1 Concentração de MAAs em *Hypnea musciformis* nos diferentes pontos de coleta, representados por praia e estado. Os valores são expressados em mg MAA g DW⁻¹, seguindo a ordem de ocorrência. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls (p<0,05). n=3. As barras indicam os desvios padrão.

Figura 3.2 Análise de regressão linear e os valores do coeficiente de determinação (R²) para a regressão linear e exponencial, entre os valores de latitude (fator) e de MAAs de *Hypnea musciformis*, expressados em mg g de massa seca de alga. A figura demonstra a tendência no aumento da concentração de mg MAA gDW⁻¹ (F= 3,88019, p= 0,001612) e mg MAA gN⁻¹ (F=4,21801, p=0,002152), com o aumento da latitude S.

Figura 3.3 Valores das médias da concentração de MAAs em *Hypnea musciformis* encontrados nas respectivas praias e estado. Os gráficos de barras são apresentados em ordem da região Norte (Lat. 3°S) para a região Sul (Lat. 28,5°S). A fração de cada tipo de MAAs é representada pelas diferentes cores/texturas. n=3.

Figura 3.4. Fração de cada tipo de MAA em *Hypnea musciformis* nos diferentes locais de coleta (Praia + Estado). A - Concentração de Shinorina nas amostras dos respectivos pontos de coleta. B - Fração de Asterina-330 nos respectivos locais de coleta. C - Concentração de Palitina. D - concentração de Paliteno. Os dados estão dispostos em ordem de ocorrência. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste a posteriori de Newman-Keuls ($p < 0,05$). $n=3$.

Figura 3.5 Análise de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais que incidem sobre os 21 pontos de coleta. Os nomes das praias estão descritos na parte central da figura. A intensidade das variáveis ambientais está de acordo com o comprimento da flecha. PAR= *Photossynthetically active radiation*, CAL= Calcita, CHLO= Valores máximos de Clorofila, CLOUD= Nebulosidade, SSTv= Variação da temperatura superficial da água do mar, N:P= Razão entre Nitrogênio e Fosfato no ambiente, SIL= Silicato, FOS= Fosfato, O2= Oxigênio dissolvido, NIT= Nitrato, DA= máximos valores de atenuação difusa, IUV=Índice ultravioleta, SAL= Salinidade, SSTm= valores máximos de temperatura superficial da água do mar.

Figura 3.6. Gráficos de regressão linear simples. A concentração de MAAs representa a variável dependente (Y) em função das diferentes variáveis ambientais (X). As equações das retas obtidas a partir dos dados coletados são representadas acima de cada gráfico. O valor de R^2 indica a porcentagem da variação de Y que pode ser explicada pela variação de X.

Figura 3.7. Imagem em superfície 3D da análise multivariada das médias para interação entre as variáveis phos= fosfato ($\mu\text{mol L}^{-1}$) e dissox= oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e a quantidade de MAAs em *Hypnea musciformis* (mg MAA g DW^{-1} vs. Dissox vs. Phos) Phos = Distância ponderada dos mínimos quadrados. $n=21$.

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Informações a respeito dos 23 pontos de coleta ao longo da costa brasileira, incluindo os locais que representam os sítios de amostragem, o município e estado, as coordenadas geográficas (Longitude Oeste, O) (Latitude Sul, S), o substrato de ocorrência e a data da coleta.

Tabela 2.2. Tipos de MAAs que foram possíveis de ser detectados pela presença de padrões secundários, com o respectivo coeficiente de extinção molar e a referência utilizada para obtenção dos valores.

Tabela 2.3. Espécies identificadas e analisadas neste trabalho. Os tipos de MAAs (Pal, Palitina, Ast, Asterina, Shi, Shinorina, Por, Porphyra-334 e Myc, Micosporina-glicina) encontrados em cada espécie estão demarcados e os pontos de ocorrência indicados com números em concordância com a Tabela 2.1, bem como o ponto de ocorrência.

Tabela 2.4. Análise de Modelo Linear Generalizado para as principais variáveis abióticas observadas neste trabalho. Em negrito estão aquelas que foram significativas a $p < 0,05$. Os valores de R^2 múltiplo indicam a aplicabilidade do modelo quando usamos estas variáveis para explicar a concentração de MAAs nas diferentes espécies de algas vermelhas. Na mesma linha dos valores de R estão os valores de p e F significativos para o uso deste modelo. $N=426$.

Tabela 3.1. Correlação Linear de Pearson. No eixo vertical estão a latitude, MAAs totais, e os tipos de MAAs. No eixo horizontal, as variáveis ambientais significativas, a latitude e os valores de MAAs totais.

Tabela 3.2. Análise de GLM feita a partir das variáveis significativas para a regressão linear. É apresentado o melhor modelo encontrado para explicar maiores concentrações de MAAs em *Hypnea musciformis* em relação as variáveis abióticas que incidem nos diferentes pontos de coleta na costa brasileira. O valor de R^2 indica o

poder explicativo do modelo. Força ($\alpha=0,05$) indica a intensidade de cada variável na influência da concentração de MAAs. Valores em negrito são significativos a $p<0,05$. $n=64$.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1	
1.1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVAS	1
1.1.1 Visão geral das algas	1
1.1.2 Algas vermelhas.....	2
1.1.3 Fatores de Influência de Latitude e Biodiversidade.....	2
1.1.4 Radiação Solar.....	3
1.1.5 Aminoácidos do tipo micosporina (MAAs).....	5
1.2 OBJETIVOS	7
1.2.1 Objetivo Geral.....	7
1.2.2 Objetivos Específicos.....	7
1.3 REFERÊNCIAS	8

CAPÍTULO 2, pág. 17.

2. RELAÇÕES ENTRE A COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DO TIPO MICOSPORINA EM ALGAS VERMELHAS DA COSTA BRASILEIRA E FATORES ABIÓTICOS

2.1. INTRODUÇÃO	17
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	19
2.2.1. Área de estudo e material biológico	19
2.2.2. Extração e análise cromatográfica de MAAs.....	20

2.2.3. Identificação e quantificação de MAAs.....	21
2.2.4. Agrupamento da costa brasileira (Análise de <i>Cluster</i> e PCA)	21
2.2.5. Tratamento dos dados de concentração de MAAs	22
2.2.6. Análise de GLM	23
2.3. RESULTADOS	23
2.3.1. Agrupamento da costa do brasil	23
2.3.2. Características abióticas das regiões da costa brasileira	24
2.3.3. Concentração de MAAs nas espécies de algas vermelhas	25
2.3.4. Diversidade de MAAs nas espécies	27
2.3.5. Influências ambientais na concentração e no tipo de MAAs .	30
2.3.5.1. Sub-região Ilhas Oceânicas	32
2.3.5.2. Sub-região Nordeste	33
2.3.5.3. Sub-região Sudeste	34
2.3.5.4. Sub-região Sul	35
2.4. DISCUSSÃO	36
2.4.1 Concentração de MAAs nas espécies de algas vermelhas	36
2.4.2. Influências ambientais na concentração e no tipo de MAAs	37
2.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
2.6 REFERÊNCIAS	39

3. INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NA CONCENTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO DE MAAs EM *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamouroux, AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA

3.1. INTRODUÇÃO	49
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	51
3.2.1 Análise elementar de C:N.....	52
3.2.2. Análise de MAAs totais.....	52
3.2.3. Tratamento das variáveis ambientais e análise estatística.....	52
3.2.4. Análise de PCA.....	53
3.3. RESULTADOS	54
3.3.1. Conteúdo de MAAs.....	54
3.3.2. Parâmetros Abióticos.....	57
3.3.3 Análise de PCA.....	57
3.3.3. Fatores ambientais que afetam a distribuição das MAAs.....	58
3.4. DISCUSSÃO	62
3.4.1. Conteúdo total de MAAs.....	62
3.4.2. Fatores ambientais que afetam o conteúdo de MAAs.....	62
3.4.3. Valoração e prospecção de <i>Hypnea musciformis</i>	64
3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	65

3.6 REFERÊNCIAS..... 66

1. CAPÍTULO 1.

1.1 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVAS

1.1.1 Visão geral das algas

As algas são consideradas os mais antigos membros do reino das plantas com origem a cerca de 1,6 bilhões de anos atrás (Bengtsson et al., 2017). Possuem origem polifilética, por consequência de ao menos dez linhagens que evoluíram de forma independente, e representam diferentes filos. Constituem um grupo diverso de macro e micro organismos eucariontes (com exceção das cianobactérias), autotróficos, não vasculares, uni ou multicelulares, sem organização de tecidos verdadeiros (South & Whittick, 1987; Lee, 2008). As algas são a base da cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos, responsáveis pela geração de oxigênio e pela produção de compostos orgânicos. Também ocorrem no ambiente terrestre em associações simbióticas com outros seres ou de forma livre. No ambiente marinho, fornecem recursos de minerais, vitaminas, proteínas, fibras e ácidos graxos poli insaturados para dieta de diferentes organismos. Também são formadoras de habitats e responsáveis por ao menos 90% da fotossíntese global (Graham et al., 2016).

As macroalgas marinhas são constituídas por três filos (Rhodophyta, Phaeophyta e Chlorophyta), que assim como as plantas terrestres divergiram a cerca de 500 milhões de anos atrás. Se desenvolvem em sua grande maioria na região entremarés onde são constantemente expostas a diversas influências no ambiente natural pela exposição à radiação, mudanças de temperaturas, salinidade, pH e nutrientes, tornando-as altamente adaptáveis. Variam desde poucos cm até cerca de 70 metros (em algumas algas pardas). Apresentam diferenciação nos pigmentos, sendo a ficoeritrina e a ficocianina responsáveis pela coloração vermelha nas Rhodophyta, as clorofilas a e b pela coloração verde nas Chlorophyta e os carotenoides, responsáveis pela coloração marrom nas Phaeophyceae (Graham et al., 2016).

Comunidades de macroalgas representam os principais componentes das zonas entremarés dos litorais, assumindo funções ecológicas chave de produção primária e de estruturação dos nichos e habitats para fauna bentônica (Santelices et al., 2009). Nas regiões

entre marés, o movimento de submersão e exposição ao ar expõe com frequência as comunidades a extremos abióticos (Lobban & Harrison, 1994). Processos oceanográficos conduzem o balanço de nutrientes e esporos (Menge et al., 1997), e a influência biótica de herbivoria, competição e facilitação, mantém essa rede de fatores que influem na fisiologia e estrutura das comunidades algais (Duffy & Hay, 2001; Witman & Dayton, 2001).

1.1.2 Algas Vermelhas

As algas vermelhas são constituídas por organismos adultos contendo talos unicelulares ou multicelulares, estes últimos que variam de poucos centímetros até cerca de 1 m. A presença de ligações extracelulares, dos pigmentos ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina organizados em ficobilissomos, amido das florídeas localizado fora dos cloroplastos, e a constituição de polissacarídeos sulfatados (ágar e carragenana) na parede celular, são características exclusivas deste grupo (Raven et al., 2007). Possuem em sua grande maioria um hábito bentônico com distribuição vertical que varia desde o supralitoral a até 268 m de profundidade (no caso das algas calcárias não-articuladas) (Littler et al., 1985). Estão presentes desde as regiões polares e são especialmente diversas e abundantes em águas tropicais (Graham et al., 2016). Representam o grupo mais diverso dentre as macroalgas, com aproximadamente 7.151 espécies aceitas (Guiry & Guiry, 2017). No litoral brasileiro ocorrem cerca de 460 espécies (Bicudo & Menezes, 2010), podendo o número de espécies ainda ser maior com base em estudos moleculares (Carstens et al., 2013; Kekkonen & Hebert, 2014).

1.1.3 Fatores de Influência de Latitude e Biodiversidade

Quando se consideram gradientes latitudinais, se busca por um padrão que explique a diversidade, desde a escala molecular, dos indivíduos, populações e ecossistemas. O termo biodiversidade é abrangente e envolve a relação entre as espécies e os sistemas ecológicos que incluem variações na morfologia, fisiologia e no metabolismo. As condições ambientais podem diversificar a expressão gênica das espécies, refletir a plasticidade celular e o

potencial de aclimação às diferentes condições ambientais, além de determinar a especiação (Ricklefs, 2010).

Acredita-se que fatores abióticos, como a temperatura superficial dos oceanos (SST, do inglês *Sea Surface Temperature*), a radiação fotossinteticamente ativa (PAR, do inglês *Photosynthetically Active Radiation*) máxima e mínima no verão e inverno, respectivamente, e a disponibilidade de nutrientes sejam os principais fatores explicativos para os padrões de diversidade observados em escala regional (Kerswell et al., 2006).

O aumento de espécies em baixas latitudes é um dos padrões mais reconhecidos e discutidos na literatura (Pianka 1966; Gaston 2000) e relacionado às maiores temperaturas, produtividade primária e a heterogeneidade de ambientes das regiões tropicais (Boulton et al., 2008; Gastón et al., 2000; Rohde, 1992). A hipótese de *species-energy*, por exemplo, acredita que o maior número de espécies nos trópicos resulta do rápido metabolismo e de maiores taxas de especiação associados às águas quentes (Kaspari et al., 2004). A teoria da estabilidade climática sugere que regiões tropicais são ambientes mais estáveis e favoráveis à especiação e à manutenção de espécies endêmicas, se comparadas aos ambientes polares e temperados com maiores índices de extinção (Hawkings et al., 2003). No entanto, não existem evidências que suportem o padrão global de diversidade de espécies para as macroalgas. Diversos estudos descrevem um padrão latitudinal de diversidade que pode variar de acordo com o local de estudo (Bolton et al., 1994; Santelices & Meneses, 2000). No Oceano Atlântico, considera-se um padrão bimodal para a distribuição das macroalgas, com aumento da diversidade de espécies tanto em regiões tropicais quanto em regiões temperadas, mas não nas regiões polares (Bolton et al., 1994; Kerswell et al., 2006; Santelices et al., 2009).

Para alguns grupos como das plantas e dos animais terrestres, o padrão de diversidade pode ser explicado estatisticamente em termos de algumas variáveis ambientais, sumarizadas no que chamados de influência latitudinal (como descrito acima). No caso de outros, há uma grande dificuldade frente aos tantos fatores de influência (Rohde, 1992). Ainda, vale ressaltar que nenhum mecanismo isoladamente parece explicar um determinado padrão latitudinal, que varia com a escala espacial

(Gaston, 2000; Boulton et al., 2008).

1.1.4 Radiação Solar

A manutenção da vida no planeta Terra é dependente da relação entre os organismos fotossintetizantes e a radiação solar. O espectro de irradiância do sol que atinge a superfície terrestre classifica as qualidades da energia de acordo com seu efeito nos organismos vivos. A radiação visível (400-700 nm) é a parte do espectro utilizada diretamente pelos organismos fotossintetizantes para a conversão de energia luminosa em energia química (e por isso, PAR), e representa a maior fração do total incidente. A radiação ultravioleta (100 a 400 nm) é subdividida em três partes (RUVA, RUVB e RUVC). A RUVA (320-400 nm) e a RUVB (280-320) de alta energia, possuem efeitos significativos sobre as células dos organismos, enquanto a RUVC (100-280 nm) é totalmente barrada na atmosfera, incluindo ação da camada de ozônio. Já a fração do espectro solar com menor energia e maior comprimento de onda é o infravermelho (700-50.000 nm).

Durante o curso da evolução, diferentes estratégias químicas e morfológicas foram desenvolvidas para que os organismos pudessem lidar com a falta ou excesso de irradiância (Monroe & Poore, 2005). Sobretudo, o aproveitamento de diferentes qualidades de radiação permite a manutenção do crescimento, do metabolismo e da homeostase. São exemplos os mecanismos de sinalização fotomorfo genéticos, o controle de fotorreceptores e o conteúdo de pigmentos (Bischof et al., 2006; Talarico & Maranzana, 2000; Barufi et al., 2015).

Por conta do elevado processo industrial das últimas décadas, a poluição atmosférica tem sido responsável pelo incremento de gases na estratosfera ocasionando modificações na disposição da camada de ozônio, que atua como um filtro da radiação solar incidente sobre a superfície da Terra (Crutzen, 1992; Kerr & McElory, 1993; McKenzie et al., 2011). Reduções na espessura da camada de ozônio são reportadas na Antártica e no Ártico (Rex et al., 2004; Manney et al., 2011; Moreau et al., 2015). Modelagens sobre a recuperação da camada de ozônio indicam um aumento de até 4% da RUV em zonas tropicais até 2100 (Hegglin &

Shepherd, 2009; Bais et al., 2011), enfatizando a necessidade de compreender como os seres respondem à presença da radiação excedente no ambiente natural.

A RUVB é a fração do espectro solar que incide na superfície da Terra mais danosa aos componentes biológicos (Moreau et al., 2015). O excesso de ambas radiações PAR e UV demonstrou efeitos negativos nas macroalgas que atingem níveis moleculares, fisiológicos e ecológicos (Häder & Figueroa, 1997; Bischof et al., 2006). Os danos podem afetar o crescimento, pigmentação, produção de oxigênio fotossintético, a motilidade, metabolismo de N₂, composição de ficobiliproteínas e processos bioquímicos em geral (Häder et al., 2007; Sinha et al., 1996; 1997; Sinha et al., 2008). Além disso, podem ocorrer danos diretos ao DNA, RNA, proteínas e lipídeos ocasionando perda da função destas moléculas, e indiretos, pela formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Karentz et al., 1991; Vincent & Roy, 1993).

O reparo e a proteção de dano no DNA por indução do UV envolvem mecanismos de fotorreativação, por meio do reparo por excisão de nucleotídeos e de bases, e pelo reparo por recombinação (Kumari et al., 2008). Além disso, pode ocorrer o impedimento do dano pelo acúmulo de carotenoides, enzimas detoxificantes de radicais livres e antioxidantes (Middleton & Teramura, 1993; Mittler & Tel-Or, 1991; Lee & Shiu, 2009) e no caso das cianobactérias e algas vermelhas, pela síntese de aminoácidos do tipo micosporina (MAAs) (Singh et al., 2008; Sinha et al., 2008).

1.1.5 Aminoácidos do tipo micosporina

Aminoácidos do tipo micosporinas (MAAs do inglês, *Mycosporine-like amino acids*) são metabólitos secundários produzidos por bactérias, cianobactérias, fitoplâncton, macroalgas, fungos e líquens, mas não por animais, pois estes não possuem a via bioquímica do chiquimato para produção destes metabólitos (Gröninger et al., 2000; Sinha et al., 2007, 2008). Os MAAs são moléculas pequenas com peso molecular próximo de 330 Da, solúveis em água e de alta fotoestabilidade. Apresentam-se como moléculas anfóteras, similares aos aminoácidos, apresentando cargas positivas e negativas (Nakamura et al., 1982). As micosporinas são constituídas por um anel de ciclohexenona ou de

ciclohexenimina, conjugado com um substituinte nitrogenado de um aminoácido que atua como cromóforo, permitindo a absorção de radiação de onda curta (Singh et al., 2008). As variações na faixa de absorção pelos MAAs ocorrem de acordo com a inserção dos grupos laterais de aminoácidos e o nitrogênio substituinte da molécula (Sinha et al., 2007) (Figura 1.1).

A biossíntese de MAAs ocorre a partir da via do ácido chiquímico, pela rota para aminoácidos aromáticos, que servem como precursores dessas substâncias. O MAA primário micosporina-glicina, é sintetizado pela via do chiquimato e então é transformado através de conversões químicas e/ou bioquímicas em aminoácidos tipo micosporinas secundários (Carreto et al., 2011; Balskus & Walsh, 2010).

Nas algas marinhas, os metabólitos contém anéis de ciclohexenimina, com absorção máxima entre 310 e 360 nm, com exceção da micosporina-glicina e micosporina-aurina,

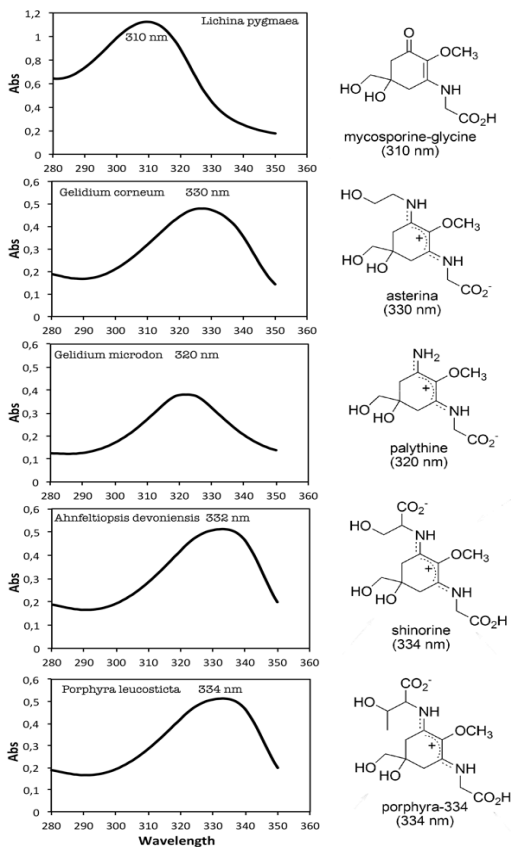


Figura 1.1. Perfil de absorção espectral de cinco aminoácidos do tipo micosporina comumente encontrados em algas marinhas, e também sua respectiva fórmula estrutural. Adaptado de Carreto et al. (2011).

que são aminociclohexenonas (Favre-Bonvin et al., 1987).

Atualmente são descritos cerca de 23 MAAs para organismos marinhos (Bohm et al., 1995, Korbee et al., 2006).

Diversas funções envolvidas na fisiologia dos organismos são atribuídas a esses metabólitos, sendo a característica fotoprotetora frequentemente citada como a principal devido às propriedades de absorção da radiação na faixa da RUV, e de forma secundária, pela sua capacidade antioxidante (Shick et al., 1999).

A expressão de MAAs pode ser induzida pela radiação UV, o que demonstra ser esta uma importante característica de aclimatação para fotoproteção (Karsten et al., 1998a; Llewellyn & Harbor, 2003). Em experimentos realizados por Carreto et al. (1999), o aumento no conteúdo de MAAs em dinoflagelados e cianobactérias pôde ser induzido pela exposição à radiação ultravioleta artificial. Junto à radiação solar, outros fatores ambientais como a salinidade, temperatura, e a disponibilidade de nutrientes também podem influenciar a concentração de MAAs (Korbee et al., 2006). Além disso, a profundidade também é um fator importante para a acumulação destes compostos. Em águas rasas, são reportadas espécies contendo maiores concentrações de MAAs quando comparados aos organismos da mesma espécie que habitam águas mais profundas. Essa diferença é atribuída aos menores níveis de RUV na profundidade pelo processo de atenuação da radiação na coluna d'água (Dunlap et al., 1986; Fleischmann, 1989; Karsten et al., 1998a).

Embora os MAAs sejam produzidos apenas por produtores primários, a bioacumulação desta classe de compostos ocorre dentre os níveis mais elevados da cadeia trófica sendo praticamente onipresente entre organismos marinhos (Nakamura et al., 1982; Carroll & Shick, 1996). Em organismos não produtores, a presença dos MAAs ocorre em tecidos específicos, como por exemplo no tecido ocular e mucoso de diversas espécies de peixes recifais (Dunlap et al., 1989; Zamzow, 2004, 2007), ou por associações simbióticas, como por exemplo, entre as zooxantelas e corais (Shick, et al., 1991;1995; Sommaruga et al., 2006). As funções atribuídas a estes compostos são semelhantes àquelas reportadas para essas substâncias quando presentes nos produtores primários,

ou seja, proteção contra RUV e atividade antioxidante (Dunlap et al., 1998; Adam & Shick, 1996).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar e quantificar MAAs nas espécies mais comuns de algas vermelhas provenientes de diferentes locais ao longo da costa oceânica do Brasil, associando a variação desses compostos às oscilações dos componentes abióticos.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as espécies mais comuns de algas vermelhas que possuem MAAs;
- Relacionar a composição de MAAs das diferentes espécies de algas vermelhas com as variações de dados abióticos das regiões da costa do Brasil;
- Relacionar concentração e diversidade de MAAs em *Hypnea musciformis* com variáveis abióticas.

2. CAPÍTULO 2: RELAÇÕES ENTRE A COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DO TIPO MICOSPORINA EM ALGAS VERMELHAS DA COSTA BRASILEIRA E FATORES ABIÓTICOS

2.1. INTRODUÇÃO

Algas marinhas que habitam a zona entremarés são expostas a ambientes com alta variação de luz (Luning, 1985). As variações na incidência de irradiância possuem implicações sobre a ecofisiologia dos organismos fotossintetizantes influenciando processos metabólicos chave que afetam indivíduos, populações e comunidades (Jokiel, 1980; Wiencke et al., 2000; Wängberg et al., 2006), principalmente os danos causados pelo espectro de radiação UV de alta energia, capaz de danificar proteínas, ácidos nucleicos e as membranas celulares dos seres autótrofos (Bischof et al., 2000; Helbling et al., 2001). Embora as consequências biológicas das mudanças por altas doses de RUV em ecossistemas marinhos não sejam totalmente compreendidas, muitos organismos fitobentônicos que vivem na região entremarés são fortemente afetados (Franklin & Forster, 1997). Os distúrbios causados pela radiação UV nos processos biológicos podem resultar na inibição da divisão celular e da fotossíntese (Holzinger et al., 2004), alterações na ultraestrutura do cloroplasto e das mitocôndrias (Poppe et al., 2003) e na redução do crescimento e expressão de genes envolvidos na fotossíntese (Mackerness et al., 1999).

Macroalgas que são frequentemente expostas a altas doses de radiação solar possuem diversos mecanismos de proteção e reparo para minimizar os danos oriundos da RUV (Häder & Figueroa 1997^a; Bischof et al., 2000, Fu et al., 2013). Alguns destes mecanismos incluem a acumulação de substâncias e enzimas antioxidantes (Vincent & Roy, 1993; Misonou et al., 2003), a fotoinibição dinâmica (Figueroa et al., 1997; Bischof et al., 1999), o aumento na espessura e densidade das paredes celulares (Talarico & Maranzana, 2000) e a síntese e acumulação de compostos que absorvem UV, como as trihidroxycumarinas em algas verdes, os polifenóis em algas pardas e os aminoácidos do tipo micosporina em algas vermelhas (MAAs) (Graham et al., 2016; Nakamura et al., 1982).

Os MAAs são considerados metabólitos secundários multifuncionais (Oren & Gunde-Cimerman, 2007). Possuem a capacidade de absorver radiação UV, prevenindo os componentes celulares de serem afetados, sem a formação de reações fotoquímicas que produzem ROS (do inglês, *Reactive oxygen species*) (Nakamura et al., 1982; Conde et al., 2000; Bhatia et al., 2011). Agem como substâncias antioxidantes (Vincent & Roy, 1993), prevenindo os danos causados pelo ROS resultantes do excesso de radiação UV (Karsten et al., 2003), agem contra a dessecação (Jiang et al., 2008), e podem agir como reserva de nitrogênio no interior das células (Korbee et al., 2004).

Aminoácidos do tipo micosporina já foram reportados em macroalgas vermelhas de diferentes profundidades (Bischof et al., 1998a; Höyer et al., 2001), desde os pólos às regiões tropicais (Karsten et al., 1998a). Os MAAs também são obtidos pelos animais herbívoros, e são acumulados em invertebrados e vertebrados através dos níveis tróficos mais elevados (Carefoot et al., 1998, Dunlap & Shick, 1998; Adams & Shick, 1996). As funções atribuídas aos MAAs nos diferentes filos, são semelhantes ou as mesmas, das que possuem nos produtores primários (Adams & Shick, 2001).

Alguns autores relacionam maiores incidências de irradiância *in loco* com maiores concentrações de MAAs nas algas vermelhas (Carreto et al., 1990, Karsten et al., 1998a). Em contrapartida, outros acreditam que não existam padrões consistentes que regulem a síntese destes compostos, pois os precursores à formação e a acumulação de MAAs são altamente variáveis por representarem mecanismos espécie-específicos (Hoyer et al., 2002). Em estudos realizados *in vitro* com espécies que produzem MAAs, demonstrou-se que a incidência de radiação nos comprimentos de onda azul de PAR e UV, e a maior disponibilidade de nitrogênio inorgânico são mais efetivos para a síntese dos MAAs que a fração verde e vermelha de PAR, e menores concentrações de nitrogênio inorgânico (Korbee et al., 2005b, Bonomi-Barufi et al., 2011). No entanto, a interação entre a radiação UV e a disponibilidade de nitrogênio inorgânico parece ser mais explicativa para a síntese dos MAAs (Navarro et al., 2014).

Os riscos dos danos induzidos aos organismos através da RUV aumenta consideravelmente (Braun et al., 2016) em regiões

oceânicas tropicais que possuem os maiores níveis de radiação ultravioleta da Terra (Banaszak & Lesser, 2009), que também possuem águas oligotróficas com alta penetração de radiação solar (Baker et al., 1980), além dos fenômenos de redução da espessura da camada de ozônio (Wild et al., 2005). A avaliação de correlações entre parâmetros abióticos e a indução a síntese de MAAs pode ser difícil pela diversidade de fatores que influenciam no acúmulo destes compostos (Carreto et al., 2011; Korbee-Peinado et al., 2006; Bonomi-Barufi et al., 2011). Independente dos mecanismos de indução, a resposta para a produção dos MAAs varia de acordo com o organismo em estudo. O início da síntese pode ser rápido (na ordem de horas) nos dinoflagelados e em macroalgas vermelhas (Taira et al., 2004; Helbling et al., 2004; Navarro et al., 2014), podendo se estender durante dias a semanas para espécies de macroalgas e corais (Shick, 2004; Karsten & Wiencke, 1999).

Nesse sentido, nenhum trabalho englobou diversos fatores atuando sobre a concentração de MAAs em diferentes espécies de macroalgas vermelhas, sobre uma grande escala geográfica. Com isso, o presente estudo tem por objetivo avaliar o conteúdo de MAAs em diferentes espécies de algas vermelhas na região costeira do Atlântico Sul Ocidental, e encontrar explicações, a partir dos preditores ambientais incidentes na costa brasileira, para as variações na concentração e na diversidade de aminoácido do tipo micospolina nas diferentes espécies e regiões geográficas.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Área de estudo e material biológico

As amostras de algas vermelhas (triplicatas) foram coletadas em 21 praias e duas ilhas oceânicas ao longo da costa brasileira com uma variação latitudinal entre 3°8'S e 28°5'S durante os meses de verão de 2015 (Tabela 2.1). Os espécimes foram coletados na zona intertidal de costões rochosos e formações recifais em profundidades de no máximo 30 cm. Cerca de 5 a 8 espécies foram coletadas por ponto, considerando as algas mais evidentes no local. Foram mensuradas as coordenadas geográficas de cada local com GPS (GPSMAP-64s, Garmin). Aproximadamente 200 mg de biomassa fresca foram secadas em papel absorvente e

pesadas em balança analítica (BEL-M5202), armazenadas em pacotes de chá e inseridas dentro de sacos plásticos (*zip lock*) com sílica gel para secar. A identificação das espécies foi feita utilizando literatura especializada para a flora de algas brasileira (Cordeiro-Marino, 1978; Joly, 1967; Litter e Litter, 2000). Duplicatas adicionais foram coletadas também para seu tombamento no herbário FLOR da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Tabela 2.1. Informações a respeito dos 23 pontos de coleta ao longo da costa brasileira, incluindo os locais que representam os sítios de amostragem, o município e estado, as coordenadas geográficas (Longitude Oeste, O) (Latitude Sul, S), o substrato de ocorrência e a data da coleta.

Ponto	Local	Município - Estado	Longitude (O)	Latitude (S)	Substrato	Data
1	Ilha de Fernando de Noronha	Fernando de Noronha - RN	-32,45	-3,86	Recife Coralíneo	22/04/15
2	Tartarugas	Atol das Rocas - RN	-32,45	-3,87	Recife Coralíneo	21/03/15
3	Barra da Sereia	Icapui - CE	-37,51	-4,63	Recife Arenítico	19/01/15
4	Ponta Grossa	Icapui - CE	-37,42	-4,67	Recife Arenítico	20/01/15
5	Porto	Baía Formosa - RN	-37,42	-6,23	Recife Arenítico	07/01/15
6	Pipa	Tibau do Sul - RN	-35,05	-6,37	Recife Arenítico	08/01/15
7	Praia do Amor	Conde - PB	-34,8	-7,15	Recife Vulcânico	04/01/15
8	Ponta do Cabo Branco	João Pessoa - PB	-34,8	-7,28	Recife Arenítico	05/01/15
9	Praia de Tamandaré	Tamandaré - PE	-35,06	-8,72	Recife Coralíneo	04/03/15
10	Praia de Maragogi	Maragogi - AL	-35,21	-9,02	Recife Coralíneo	06/03/15
11	Jauá	Camaçari - BA	-38,2	-12,8	Recife Coralíneo	20/03/15
12	Stella Maris	Salvador - BA	-38,34	-12,95	Recife Coralíneo	23/03/15
13	Arraial d'ajuda	Porto Seguro - BA	-39,07	-16,49	Recife Coralíneo	25/04/15
14	Ubu	Anchieta - ES	-40,47	-20,65	Costão Rochoso	02/02/15
15	Cerca ES	Guarapari - ES	-40,59	-20,8	Costão Rochoso	30/01/15
16	João Fernandinho RJ	Armação de Búzios - RJ	-41,87	-22,74	Costão Rochoso	31/01/15
17	Praia do Forno RJ	Arraial do Cabo - RJ	-42,01	-22,97	Costão Rochoso	30/01/15
18	Cibratel II	Itanhaém - SP	-46,81	-24,2	Costão Rochoso	18/01/15
19	Prainha	Peruíbe - SP	-47	-24,35	Costão Rochoso	17/01/15
20	Poá	Penha - SC	-48,57	-26,78	Costão Rochoso	16/02/15
21	Taquarinhas	Balneário Camboriú - SC	-48,57	-27,01	Costão Rochoso	07/03/15
22	Itapirubá	Imbituba - SC	-48,7	-28,34	Costão Rochoso	04/02/15
23	Farol Sta. Marta	Imbituba - SC	-48,81	-28,6	Costão Rochoso	06/02/15

2.2.2. Extração e análise cromatográfica de aminoácidos do tipo micosporina

Para a extração dos MAA, aproximadamente 20 mg de biomassa seca foram extraídas com 1 mL de MeOH 20% em tubos *ependorf*. Os extratos foram sonificados por 5 min, e incubados por 2 h a 45°C em banho-maria. Em seguida, submetidos a secagem em *speedvac* acoplado ao rotavapor por 8 h. O extrato sólido foi ressuspenso em 600 µL MeOH (100%) padrão HPLC, centrifugado a 13000 g, 4°C, durante 10 min. Por final, o extrato foi filtrado em filtros de 0,22 µm, e cerca de 100 µL foram transferidos para tubos de HPLC *Water systems* (Barcelona, Espanha). Para a leitura no

cromatógrafo, cerca de 30 µL foram injetados no leitor. Ressalta-se que o valor de injeção no cromatógrafo variou para algumas amostras sendo por vezes necessário diluir o extrato com o mesmo solvente utilizado para leitura.

A análise de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) dos MAAs procedeu-se em fluxo isocrático, com fase móvel filtrada e degaseificada, composta por: metanol 2,5% e ácido acético 0,1%. A fase móvel foi bombeada em fluxo de 0,5 mL.min⁻¹ em fase estacionária. Foi utilizada a coluna C8 (Sphaeroclone Phenomenex, Aschaffenburg, Alemanha) com 5 µm de tamanho de partícula e 250 x 4,6 mm de diâmetro. A pré-coluna (Phenomenex, Alemanha), foi utilizada para filtrar as amostras antes da mesma atravessar a coluna. O tempo de eluição foi de 25 min.

Adicionalmente, as amostras foram detectadas por um diodo de UV-visível (Photodiode Array Detector 996) e os valores de absorbância entre os comprimentos de onda entre 280-400 nm foram mensurados.

2.2.3. Identificação e quantificação de aminoácidos tipo micosporinas

A concentração de MAAs foi calculada através do valor da área (A) para cada cromatograma identificado nos diferentes tempos de retenção. Os valores de biomassa seca (DW), coeficiente de extinção molar (ε') volume injetado (V) e o fluxo da fase móvel (F) foram usados para calcular a concentração total de MAAs de acordo com a fórmula:

$$\text{MAAs} = (A * F) / (\epsilon' * V * DW * 60)$$

Os padrões secundários para Palitina, Asterina-330, Micosporina-glicina, Shinorina e Porphyra-334 foram fornecidos pelo laboratório de Fotobiologia e Biotecnologia de Organismos Aquáticos (FYBOA) da Universidad de Málaga, Espanha. Após calcular a concentração total de MAAs e identificá-las de acordo com o tempo de retenção e o espectro de absorção referentes aos padrões para cada tipo de molécula, a fração de cada tipo foi calculada a partir do coeficiente de extinção molar referente às MAAs, baseados na literatura (Tabela 2.2.).

Tabela 2.2. Tipos de MAAs que foram possíveis de ser detectados pela presença de padrões secundários, com o respectivo coeficiente de extinção molar e a referência utilizada para obtenção dos valores.

Aminoácido tipo Micosporina	Coeficiente de Extinção Molar (ϵ)	Referência
Micosporina-glicina	28100	Gleason (1993)
Palitina	36200	Takano et al. (1978)
Asterina-330	43500	Gleason (1993)
Shinorina	44668	Tsujino et al. (1980)
Porphyra-334	43300	Takano et al. (1978)

2.2.4. Agrupamento da costa brasileira (Análise de *Cluster* e PCA)

A primeira abordagem deste trabalho foi agrupar os pontos de coletas ao longo da costa brasileira em regiões e sub-regiões a partir dos valores das variáveis abióticas incidentes em cada local. Os preditores ambientais Calcita (CAL), Clorofila (CHLO), Nebulosidade (NEB), Atenuação difusa (DA), Oxigênio dissolvido (O2), Nitrato (NIT), PAR, pH, Fosfato (FOS), Salinidade (SAL), Silicato (SIL) e Temperatura superficial do mar (SST), foram extraídos da base de dados Bio-ORACLE (*Oceans Rasters for Analysis of Climate and Environment*). O índice ultravioleta (IUV) foi fornecido pelo INPE (Instituto Nacional De Pesquisas Espaciais), referente ao dia e horário da coleta.

Com os dados citados acima, a análise hierárquica de cluster foi executada em uma matriz de 23 locais de coleta que representam este estudo. Usamos a distância euclidiana e um método aglomerativa (Legendre & Legendre, 1998). O intervalo de confiança no cluster hierárquico foi calculado por *bootstrap* multiescala (Shimodaira, 2004) através do pacote 'pvclust', do R (Suzuki & Shimodaira, 2006) com 10.000 replicagens de *bootstrap*. A propabilidade de *bootstrap* foi calculada em valores de AU % (*approximately unbiased*). Os nós com AU \geq 95 % foram considerados sub-grupos.

Uma análise de PCA foi feita com os preditores ambientais incidentes nas diferentes regiões geográficas para identificar quais variáveis abióticas são mais influentes em determinado local, e para tornar didaticamente perceptível as diferenças entre as regiões e

sub-regiões relacionadas a cada variável. A PCA foi feita a partir da função 'rda' do pacote 'vegan' do software R (Oksanen, 2015).

2.2.5. Tratamento dos dados de concentração de MAAs

Foram obtidos os valores das médias, desvio padrão e variância, e em seguida, aplicado o teste de normalidade para os valores de MAAs (mg g^{-1} DW) englobando todas as amostras ($n=441$). Os valores foram descritos levando em consideração as 4 sub-regiões propostas pela análise de cluster com os preditores ambientais. O efeito das 4 sub-regiões gerada pelo cluster foi testada para os valores de MAAs nas diferentes espécies. A ANOVA multivariada utilizou os valores da concentração de MAAs como variável dependente, e testou a interação entre os fatores: espécie x região. Foi aplicado o teste *a posteriori* de Duncan para detecção de diferenças significativas entre as espécies, e de Newman-Keuls para as diferentes regiões. Em gráficos de barras, foram descritas as 4 sub-regiões de acordo com os valores de MAAs e as diferenças significativas aos testes *a posteriori*, assim como os valores de concentração de MAAs por espécie para cada região. O valor de observações (n) variou de acordo com a espécie, sendo ($n=3$) o mínimo.

Os dados foram organizados no programa Microsoft Excel 2010 e a ANOVA e o teste *a posteriori* Student Newman-Keuls feitos no programa Statistica® 13 para Windows.

2.2.6. Análise de GLM

Com os valores de MAAs (mg g^{-1} DW) aplicamos o teste de normalidade para avaliar a distribuição dos dados. Seguimos para a análise de GLM (do inglês, *General Linear Model*), onde o valor de MAAs representou a variável dependente e os diferentes preditores ambientais, as variáveis independentes. Utilizamos esta análise para se obter uma relação entre diversas variáveis e a concentração de MAAs nas diferentes espécies oriundas dos diferentes locais. Para a GLM considerou-se a família *Gaussian* e *link* de ligação *Log*. A análise foi feita no programa Statistica® 13 para Windows.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Agrupamento da costa do Brasil

A análise por agrupamento de *cluster* identificou dois grandes grupos e 4 sub-regiões na costa do Brasil. A primeira região (Tropical) agrupa os pontos localizados entre as latitudes 3° e 9°S, representados pelas Ilhas oceânicas (sub-região Ilhas Oceânicas) e pelas praias costeiras da região Nordeste do Brasil (sub-região Nordeste). A segunda representa as praias da região (Subtropical) entre as latitudes 12° e 28°S representando praias do Sudeste (sub-região Sudeste) e do Sul (sub-região Sul). (Figura 2.1).

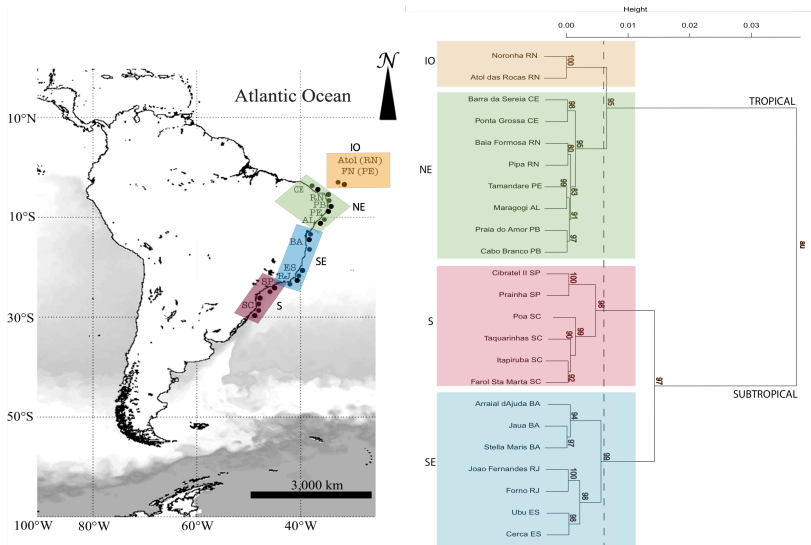


Figura 2.1. Cluster hierárquico de 23 locais na costa brasileira baseado nas variáveis abióticas que incidem em cada ponto demarcado no Mapa da Costa Brasileira. Os números nos nós indicam o suporte estatístico (probabilidades de *bootstrap*) de AU % (*approximately unbiased*). Clusters com AU $\geq 95\%$ são delimitados por retângulos nas respectivas sub-regiões. Ilhas Oceânicas (IO), Nordeste (NE), Sudeste (SE) e Sul (S). O traçado delimita a linha de corte. As regiões Tropical e Subtropical representam os principais eixos macro ecológicos, claramente discernidos em duas províncias biogeográficas da costa brasileira.

2.3.2. Características abióticas das regiões da costa brasileira

Identificamos a divergência entre dois grandes grupos na costa brasileira, denominadas de região tropical (T) e subtropical (ST) (Figura 2.1).

Os principais fatores de influência foram a SST (do inglês, sea surface temperature), sendo as médias máximas (T= 29,5°C e TQ= 27,1°C), e as mínimas (T= 26,3°C e ST= 21,7°C), com variação de 2,41°C e 4,8°C, respectivamente. Os teores da concentração de fosfato e silicato foram aproximadamente duas vezes maiores na região subtropical (Fosfato: 0,2422 mg L⁻¹ – 4,23 mg L⁻¹) do que na região tropical (Silicato: 0,1289 μmol L⁻¹ – 2,27 μmol L⁻¹). O teor de nitrato obteve variação entre T= 0,95 μmol L⁻¹ e ST= 1,21 μmol L⁻¹ e o oxigênio dissolvido oscilou entre T= 4,62 ml L⁻¹ e ST= 5,07 ml L⁻¹. Em contrapartida, os valores de PAR (T= 55,38 mol photons m⁻² d⁻¹ e ST= 53,64 mol photons m⁻² d⁻¹), salinidade (T= 36,47 e ST= 35,82), pH (T= 8,16 e ST= 8,07) e calcita (T= 0,019 mol m³ e ST= 0,005 mol m³) foram maiores na região tropical do que na subtropical.

2.3.3. Concentração de MAAs nas espécies de algas vermelhas

Trinta e nove espécies de Rhodophyta foram coletadas na zona entremarés e tiveram analisados o seu conteúdo de MAAs. *Hypnea musciformis*, *Centroceras clavulatum*, *Jania adhaerens* e espécies dos gêneros *Gracilaria*, *Laurencia* e *Palisada* se repetiram em diferentes praias enquanto algumas foram encontradas apenas em um ponto de coleta (Tabela 2.3). Os maiores conteúdos de MAAs foram encontrados nas espécies do Sudeste e Sul do Brasil (abaixo da latitude 20°), com exceção das espécies de *Gelidiopsis* sp. e *Laurencia* sp. do Atol das Rocas (RN) e *Gracilaria domingensis* (Cabo Branco, PB). Os maiores valores das médias na concentração foram de 5,89 mg MAA g⁻¹ DW em *Pyropia acanthophora*, e 3,55 mg MAA g⁻¹ DW para *Gelidiopsis* sp. (Figura 2.2).

Tabela 2.3. Espécies identificadas e analisadas neste trabalho. Os tipos de MAAs (Pal, Palitina, Ast, Asterina, Shi, Shinorina, Por, Porphyra-334 e Myc, Micosporina-glicina) encontrados em cada espécie estão demarcados e os pontos de ocorrência indicados com números em concordância com a Tabela 2.1.

Espécie	MAAs					Ponto de Ocorrência
	Pal	Ast	Shi	Por	Myc	
<i>Acanthophora muscoides</i> (Linnaeus) Bory	X	X	X	X	X	12, 16
<i>Acanthophora spicifera</i> (M. Vahl) Bergensen	X	X	X	X	X	11, 12
<i>Amansia multifida</i> J.V. Lamouroux	X	X	X	X	X	11, 12
<i>Arthrocardia gardneri</i> Manz	X	X	X	X	X	15, 22, 23
<i>Bryothamnion seaforthii</i> (Turner) Kützing	X	X	X	X	X	7, 8, 9, 10, 18, 19, 21
<i>Bryothamnion triquetrum</i> (S.G.Gmelin) M.Howe	X	X	X	X	X	12, 22, 23
<i>Centroceras clavulatum</i> (C.Adardh) Montagne	X	X	X	X	X	11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23
<i>Chondracanthus acicularis</i> (Roth) Fredericq	X	X	X	X	X	18, 19
<i>Chondracanthus elegans</i> (Greville) Guiry	X	X	X	X	X	22
<i>Chondracanthus teedei</i> (Mertens ex Roth) Kützing	X	X	X	X	X	22, 23
<i>Cryptonemia crenulata</i> (J. Agardh) J. Agardh	X	X	X	X	X	4, 10
<i>Dichotomaria marginata</i> (J. Ellis & Solander) Lamarck	X	X	X	X	X	13
<i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh	X	X	X	X	X	7, 8, 2
<i>Gelidella acerosa</i> (Forskål) Feldmann & Hamel	X	X	X	X	X	5, 9
<i>Gelidopsis</i> sp. (F. Schmitz)	X	X	X	X	X	2
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gallion	X	X	X	X	X	3, 5, 6, 15
<i>Gelidium floridanum</i> W.R.Taylor	X	X	X	X	X	18, 19, 20
<i>Gracilaria caudata</i> J. Agardh	X	X	X	X	X	3, 13, 7, 8, 5, 6, 9, 10
<i>Gracilaria cornea</i> J. Agardh	X	X	X	X	X	7, 11, 14
<i>Gracilaria domingensis</i> (Kützing) Sonder ex Dickie	X	X	X	X	X	3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 20
<i>Gymnogongrus griffithsiae</i> (Turner) C.Martius	X	X	X	X	X	17, 19, 20, 21, 22, 23
<i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen) J.V.Lamouroux	X	X	X	X	X	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23
<i>Jania adhaerens</i> J.V.Lamouroux	X	X	X	X	X	3, 14, 17, 18, 19
<i>Jania crassa</i> J.V.Lamouroux	X	X	X	X	X	13
<i>Jania cubensis</i> Montagne ex Kützing	X	X	X	X	X	6
<i>Jania rubens</i> (Linnaeus) J.V.Lamouroux	X	X	X	X	X	15, 20, 21, 22, 23
<i>Jania subulata</i> (Ellis & Solander) Sonder	X	X	X	X	X	5, 6
<i>Laurencia dendroidea</i> J. Agardh	X	X	X	X	X	11, 13, 14
<i>Laurencia filiformis</i> J.D.Hooker & Harvey	X	X	X	X	X	16
<i>Laurencia obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	X	X	X	X	X	15
<i>Laurencia</i> sp. J.V. Lamouroux	X	X	X	X	X	2
<i>Osmundaria obtusiloba</i> (C.Agardh) R.E.Norris	X	X	X	X	X	7, 8
<i>Palisada flagellifera</i> (J.Agardh) K.W.Nam	X	X	X	X	X	11, 12, 17, 18, 20, 21
<i>Palisada perforata</i> (Bory) K.W.Nam	X	X	X	X	X	5, 6, 7, 8, 9, 10
<i>Pterocladella capillacea</i> (S.G.Gmelin) Santelices & Hommersand	X	X	X	X	X	14, 16, 21, 22, 23
<i>Pyropia acanthophora</i> (E.C.Oliveira & Coll)	X	X	X	X	X	23
<i>Solieria filiformis</i> (Kützing) P.W. Gabrielson	X	X	X	X	X	3, 4
<i>Spyridia clavata</i> (C.Agardh) J.Agardh	X	X	X	X	X	17
<i>Tricleocarpa cylindrica</i> (J.Ellis & Solander) Huisman & Borowitzka	X	X	X	X	X	13, 14, 1

O acúmulo de MAAs variou de acordo com a espécie analisada. Das 441 amostras, 48,5% foram representadas por valores de concentração menores que 0,3 mg MAA g⁻¹ DW, 31,6% valores entre 0,3 e 1 mg MAA g⁻¹ DW e 19% por valores maiores do que 1 mg MAA g⁻¹ DW. Das 39 espécies analisadas, 14 obtiveram concentrações sempre menores do que 0,3 mg MAA g⁻¹ DW, independente do local de coleta (ANOVA: F=9,06; p=0,0001). Foram atribuídas uma característica de possuir baixas concentrações de MAAs às espécies: *Bryothamnion seaforthii*, *Solieria filiformis*, *Cryptonemia crenulata*, *Dichotomaria marginata*, *Jania crassa*, *Jania subulata*, *Jania cubensis*, *Jania rubens*, *Jania adhaerens*, *Osmundaria obtusiloba*, *Acanthophora spicifera*, *Amansia multifida*, *Laurencia obtusa* e *Tricleocarpa cylindrica*,

Outras espécies como *Hypnea musciformis*, *Gracilaria domingensis*, *Digenea simplex*, *Centroceras clavulatum*, e aquelas dos gêneros *Laurencia*, *Palisada*, *Gymnogongrus* e *Gelidium*, demonstraram uma ampla variação no conteúdo em relação aos

diferentes locais de amostra. *Pterocladia capillacea* e as espécies do gênero *Chondracanthus*, embora somente coletadas nas regiões Sul e Sudeste, não apresentaram variações significativas com relação aos diferentes locais de coleta.

Apresentamos por meio de gráficos de barra a concentração de MAAs nas diferentes espécies representadas pelas 4 sub-regiões (Figura 2.2).

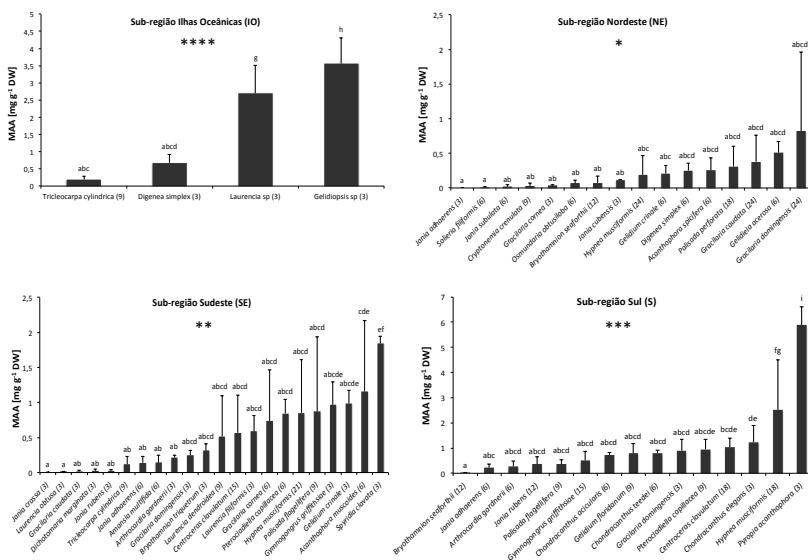


Figura 2.2. Concentração de MAAs nas 39 espécies coletadas nas diferentes sub-regiões. Os valores são expressados em mg MAA g⁻¹ DW, seguindo a ordem dos maiores para os menores valores médios. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste a *posteriori* de Duncan (p<0,05). A quantidade de asteriscos indica as diferenças significativas entre as sub-regiões observadas com o teste a *posteriori* de Newman-Keuls. O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região proposta, e é indicado entre parêntesis ao final do nome das espécies para cada local. As barras indicam os desvios padrão.

2.3.4. Diversidade de MAAs nas espécies

Nas algas estudadas, 5 MAAs diferentes foram detectadas e identificadas como Micosporina-glicina, Palitina, Asterina-330, Shinorina e Porphyra-334. A Asterina-330 representou 45,55% do

total de MAAs em 441 amostras dentre as 39 espécies analisadas, sendo na maioria das vezes majoritária considerando o conteúdo total. *Shinorina* representou 34,93%, seguida por *Porphyra-334* (4,64%) e a *Palitina* (0,14%).

Na sub-região sul, o conteúdo de *Shinorina* foi maior (80,55%) em relação as regiões sudeste (21,02%), nordeste (17,11%) e nas ilhas oceânicas (36,33%). No sudeste, *Asterina-330* foi majoritário representando (57%) do total, seguido por *Shinorina* (21,02%), *Palitina* (14,04%) e *Porphyra-334* (5,64%). Enquanto que na sub-região nordeste *Asterina-330* representou 57%, *Palitina* teve 20,71%, *Shinorina* com 17,11% e a *Porfira-334*, 4%. Por final, nas ilhas oceânicas *Asterina-330* foi majoritária com 47%, seguida de *Shinorina* (36%), *Palitina* (14%) e *Porphyra-334* (3%) (Figura 2.3).

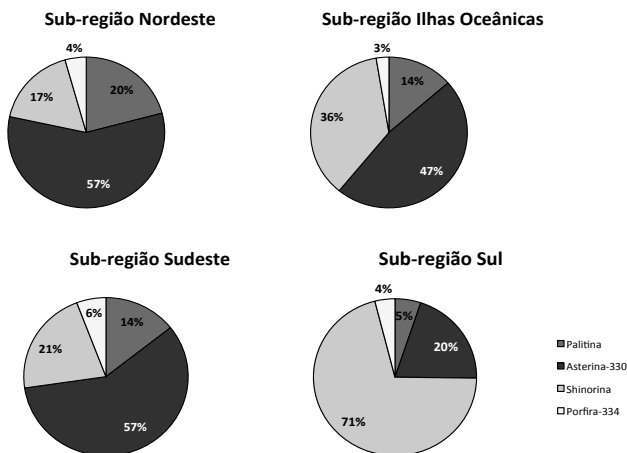


Figura 2.3. Fração dos tipos de MAAs em relação ao total para cada sub-região, delimitadas conforme análise apresentada na Figura 2.2. São representadas as 4 sub-regiões e 4 tipos de MAAs. Ilhas Oceânicas (n=18), Nordeste (n=162), Sudeste (n=125) e Sul (n=134).

As variações no conteúdo de MAAs são representadas pela ANOVA para as diferentes espécies e sub-regiões ($p < 0,005$). O teste *a posteriori* indicou *Gelidiopsis* sp. das ilhas oceânicas, *Hypnea*

musciformis e *Pyropia acanthophora* da sub-região sul, as três espécies diferentes das demais em relação a concentração de shinorina, comparando-as entre as sub-regiões (Figura 2.4). A escala dos gráficos para os tipos MAA variam conforme a região e estão indicados no eixo y.

Palitina apresentou a maior variação na ocorrência entre as diferentes espécies e regiões, com 8 diferentes classificações segundo o teste *a posteriori*. Destacam-se as espécies *Laurencia* sp. e *Gelidiopsis* sp. das ilhas oceânicas, *Gelidium crinale* da região sudeste e *Chondracanthus teedei* e *C. elegans* da região sul (Figura 2.5).

Asterina-330 foi o segundo MAA mais ocorrente e as maiores concentrações encontradas na região sudeste. A região nordeste não apresentou diferenças entre as espécies analisadas. A espécie *Spyridia clavata* se destaca com a maior concentração deste tipo de MAA (Figura 2.6).

Porphyra-334 foi o MAA de menor ocorrência depois da microsporina-glicina. A espécie *Pyropia acanthophora* da região sul apresentou o maior valor de concentração sendo diferenciada das demais espécies. Todavia, destacam-se as espécies *Gymnogongrus griffithsiae*, *Acanthophora muscoides* e *Spyridia clavata* da região sudeste (Figura 2.7).

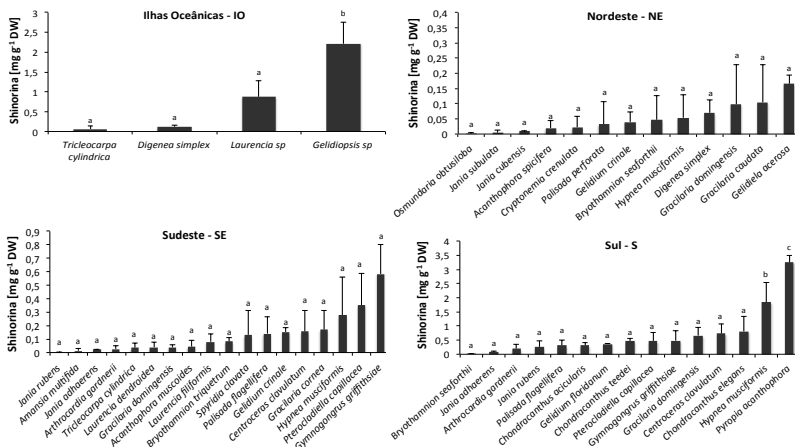


Figura 2.4. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Shinorina nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

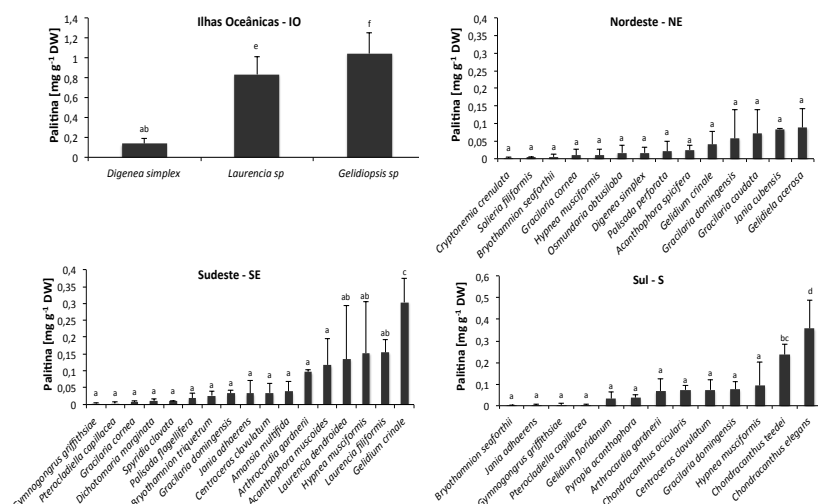


Figura 2.5. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Palitina nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

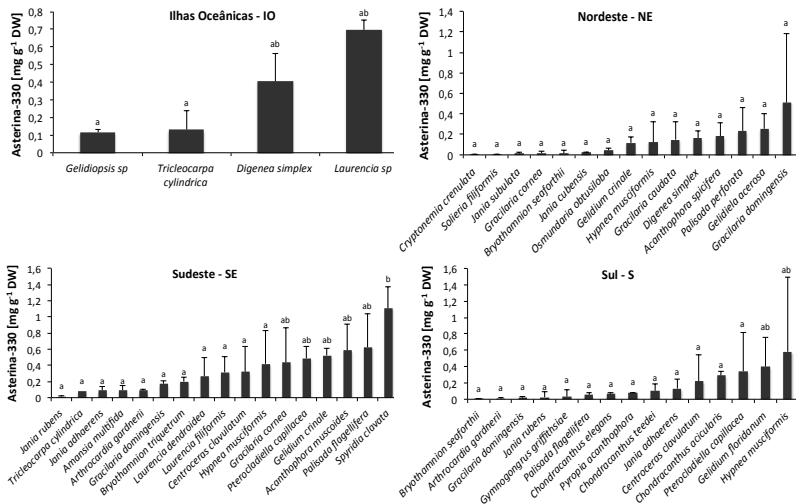


Figura 2.6. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Asterina-330 nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem de menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

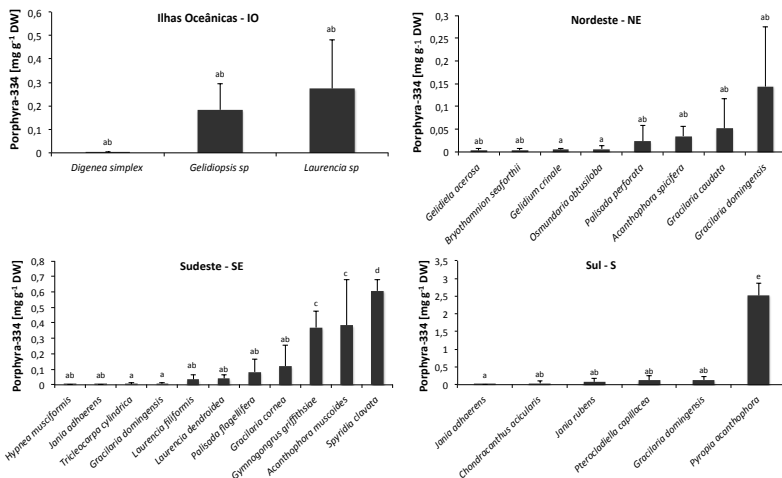


Figura 2.7. Os gráficos em barra indicam a concentração do MAA Porphyrin-334 nas diferentes espécies oriundas das diferentes sub-regiões. Os dados estão dispostos em ordem do menor para o maior valor. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). O número de observações variou conforme a espécie e a sub-região e está descrito na Figura 2.2. As barras indicam os desvios padrão.

2.3.5. Influências ambientais na concentração e no tipo de MAAs

Neste trabalho não detectamos um padrão que explique a indução da síntese de MAAs por fatores abióticos nas diferentes espécies. Observamos através da PCA que os valores de concentração de MAAs nas diferentes espécies se agrupam às características abióticas das regiões sul e sudeste da costa brasileira, conforme demonstra a figura 2.8.

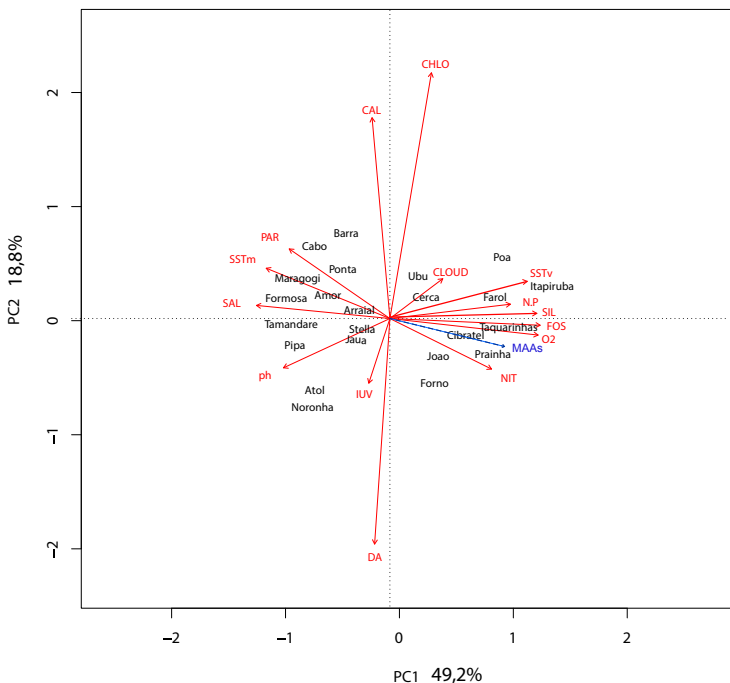


Figura 2.8. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais que incidem sobre os 23 pontos de coleta. Os nomes das praias estão descritos em preto na parte central da figura. A intensidade das variáveis ambientais está de acordo com o comprimento da flecha. Os valores das 441 análises da concentração de MAAs estão plotados em azul e se agrupam às características ambientais das regiões sul e sudeste da costa brasileira.

A partir de um modelo linear generalizado, testamos a resposta dos MAAs em relação às diferentes variáveis abióticas (Tabela 2.4.). A variação da clorofila, nitrato, pH, fosfato, salinidade e temperatura superficial da água do mar máxima foram significativos para explicar a variação nas concentrações de MAAs nas diferentes espécies e locais de coleta. No entanto, a explicabilidade do modelo ($R^2= 0,20$) foi baixa, mas significativa a $p<0,05$.

Outra abordagem foi interpretar as variações no conteúdo de MAAs de acordo com as duas sub-regiões presentes dentro da

região Tropical e da subtropical, conforme indica a Figura 2.1. Descrevemos os principais fatores incidentes em cada sub-região relacionando a concentração e a diversidade de MAAs nas diferentes espécies.

Tabela 2.4. Análise de Modelo Linear Generalizado para as principais variáveis abióticas observadas neste trabalho. Em negrito estão aquelas que foram significativas a $p < 0,05$. Os valores de R^2 múltiplo indicam a aplicabilidade do modelo quando usamos estas variáveis para explicar a concentração de MAAs nas diferentes espécies de algas vermelhas. Na mesma linha dos valores de R estão os valores de p e F significativos para o uso deste modelo. $N=426$.

	SS	MS	F	p
Intercept	6,6707	6,6707	8,9838	0,0029
IUV	0,0010	0,0010	0,0014	0,9704
CAL	1,4806	1,4806	1,9940	0,1587
CLOv	2,9388	2,9388	3,9578	0,0473
NEB	0,0029	0,0029	0,0039	0,9501
DA	2,6909	2,6909	3,6239	0,0576
O2	2,3061	2,3061	3,1057	0,0787
NIT	5,0410	5,0410	6,7889	0,0095
PAR	1,3226	1,3226	1,7813	0,1827
pH	5,4774	5,4774	7,3766	0,0069
FOS	5,8553	5,8553	7,8856	0,0052
SAL	5,5741	5,5741	7,5069	0,0064
SIL	2,5445	2,5445	3,4269	0,0648
SSTm	12,1570	12,1570	16,3725	0,0001
SSTv	1,6376	1,6376	2,2054	0,1383
Multiple R	Multiple R²	Adjusted R²		
0,4581	0,2098	0,1839		
Dependent GLM Test of SS Whole Model vs. SS Residual				$n=426$

2.3.5.1. Sub-região Ilhas Oceânicas

As principais influências relacionadas aos maiores valores de MAAs na região Tropical do Brasil (incluindo as Ilhas Oceânicas) foram evidenciadas pela análise de componentes principais, que identificou os valores de IUV e de pH básico como fatores principais para síntese de MAAs na região nordeste, conforme demonstra a Figura 2.9.

No Atol das Rocas, agrupado dentro da região das ilhas oceânicas, as espécies *Digenea simplex* e *Laurencia* sp. apresentaram

maiores valores do que aquelas coletadas em outras localidades. *Gelidiopsis* sp. foi a segunda alga com maior concentração de MAAs de todo o estudo. Além disso, *Laurencia* sp. e *Gelidiopsis* sp. obtiveram alta diversidade com ocorrência dos 5 MAAs analisados. O Atol das Rocas apresentou índice UV extremo (>11), o maior valor de pH (8,22) e o menores valor de nitrato ($0,861 \mu\text{mol L}^{-1}$), fosfato ($0,1208 \mu\text{mol L}^{-1}$), silicato ($2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$), clorofila ($0,083 \text{ mg m}^3$), atenuação difusa ($0,022 \text{ m}^{-1}$) e oxigênio dissolvido ($4,59 \text{ ml L}^{-1}$) de todos os pontos analisados. Essas características definem as águas deste local como muito claras (baixa atenuação difusa) e oligotróficas (baixa concentração de nutrientes), que permitem maior penetração da radiação solar.

2.3.5.2. Sub-região Nordeste

A sub-região nordeste apresentou os menores valores de conteúdo de MAAs do estudo comparada as outras sub-regiões. Foram exceção os espécimes de *Gracilaria domingensis* da praia de Cabo Branco (PB) e da Baía Formosa (RN). A sub-região Nordeste apresentou as maiores médias nos níveis de SST ($29,7^\circ\text{C}$), salinidade (36,5 PSS) e calcita ($0,0124 \text{ mol m}^3$), e os menores valores na concentração de nutrientes (depois das Ilhas Oceânicas). As espécies coletadas nas duas praias no estado do Ceará apresentaram os menores valores de MAAs de todo o trabalho. Foram diferenciadas das outras praias desta sub-região por apresentar altos valores de clorofila ($5,01 \text{ mg m}^3$) e de atenuação difusa ($0,267 \text{ m}^{-1}$) e os maiores valores de SST (30°C).

Na praia do Cabo Branco e Baía Formosa, os valores de IUUV foram considerados extremo e muito alto, respectivamente, podendo este fator ser associado às maiores concentrações de MAAs observadas em *G. domingensis* coletadas nesta sub-região.

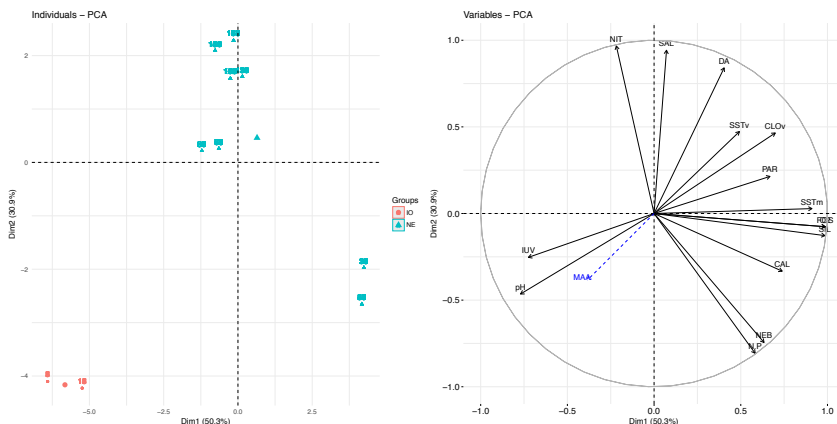


Figura 2.9. Análise de componentes principais para indivíduos e para as variáveis abióticas + MAAs referentes aos valores de concentração dos espécimes das regiões Nordeste (NE) e nas Ilhas Oceânicas (IO). É possível observar a distância entre as espécies com os valores de concentração de MAAs das ilhas oceânicas se comparadas ao Nordeste. Os valores de MAAs são indicados em conformidade com os valores de IUV e pH mais altos. A variabilidade para os dois eixos principais foi de 50,3% e 30,9%. n=182.

2.3.5.3. Sub-região Sudeste

O conteúdo de MAAs nesta sub-região foi maior nas amostras das praias do estado do RJ, principalmente da praia do Forno em Arraial do Cabo. Segundo a PCA (Figura 2.10), as praias que compõe a sub-região sudeste apresentaram valores médios em relação aos fatores abióticos se comparados aos dois extremos nordeste e sul, representando uma transição entre as regiões tropicais e subtropical em relação aos fatores abióticos. Algumas peculiaridades foram observadas para as praias do estado do Espírito Santo, que apresentou maiores teores de clorofila, atenuação difusa, salinidade, temperatura e menores valores de O₂ dissolvido, nutrientes, e acidez, quando comparada as duas praias do RJ. Vale destacar a espécie de *Laurencia dendroidea* da praia do Ubu (ES), que apresentou os 5 tipos de micosporina analisadas.

Dentre as praias do estado do RJ, a praia do Forno apresentou maiores valores de IUV, menor concentração de clorofila, menores temperaturas, e maiores valores de nutrientes e O₂ dissolvido. *Hypnea musciformis* coletada no RJ apresentou os

maiores conteúdos de MAAs desta sub-região, sendo o maior valor de concentração da amostra da praia do Forno. *Acanthophora muscoides* (Praia de João Fernandes, RJ) e *Spyridia clavulata* (Praia do Forno, RJ) se diferem pelos altos valores de concentração e da composição de MAAs, com grande quantidade de Asterina-330 e Porphyra-334.

Dentre as amostras do estado da Bahia, entre as latitudes (16° e 16°49' S), destacaram-se *Palisada perforata* (1,44 mg MAAs g⁻¹ DW) e *Hypnea musciformis* (0,90 mg MAAs g⁻¹ DW) da praia de Stella Maris (BA). No mais, todas as amostras obtiveram valores de concentração abaixo de 0,290 mg MAAs g⁻¹ DW.

Com relação à composição de MAAs, as algas desta sub-região apresentaram uma grande diversidade de moléculas comparadas as mesmas espécies coletadas em outras localidades. Todas as amostras desta região apresentaram Asterina-330 como MAA majoritária (com exceção de *H. musciformis* da praia do Ubu, ES). *Centroceras clavulatum*, das praias do RJ apresentam 4 tipos de MAAs, com destaque para as maiores concentrações de Asterina-330, e a ocorrência de micosporina-glicina.

2.3.5.4. Sub-região Sul

A sub-região Sul apresentou os maiores valores de clorofila e atenuação difusa (depois do estado do CE), além dos maiores valores de nitrato, fosfato, silicato e oxigênio dissolvido, e ainda os menores valores de salinidade, razão N:P e SST, com os valores oscilando cerca de 7,8°C.

Nesta sub-região, a shinorina foi o MAA majoritário, ao contrário da sub-região sudeste, onde asterina-330 foi majoritária. As espécies de *H. musciformis* apresentaram os maiores valores dentre todas analisadas. Além disso, notou-se a ausência de Palitina nos espécimes dessa região (com exceção a traços na amostra de Poá, SC). As amostras de *Palisada flagellifera* e *Gelidium floridanum* indicaram apenas a presença de Shinorina, enquanto foi observado a presença de outros MAAs na mesma espécie de diferentes locais. *Gracilaria domingensis* apresentou valores semelhantes às amostras do estado do RN, no entanto, o MAA majoritário foi Shinorina.

Centroceras clavulatum apresentou os maiores valores para Prainha do Farol e Itapirubá, SC. As espécies de *Chondracanthus*

nesta região apresentaram os maiores valores, sendo *Shinorina* o MAA majoritário. Destaca-se a *Pyropia acanthophora*, com maior valor de concentração entre todas as espécies analisadas na costa brasileira.

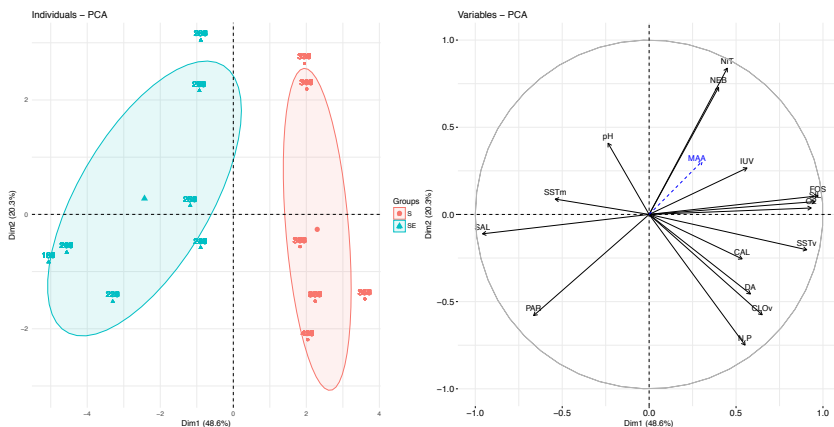


Figura 2.10. Análise de componentes principais para indivíduos e para as variáveis abióticas + MAAs referentes aos valores de concentração dos espécimes das regiões Sudeste (SE) e Sul (S). É possível observar a distância entre as espécies com os valores de concentração de MAAs duas sub-regiões. Os valores de MAAs são indicados em conformidade com os valores de IUV e nitrato mais altos. A variabilidade para os dois eixos principais foi de 48,6% e 20,3%. n=259.

2.4. DISCUSSÃO

Reportamos pela primeira vez a ocorrência e diferentes tipos de MAAs nas espécies: *Hypnea musciformis*, *Centroceras clavulatum*, *Pyropia acanthophora*, *Gelidiopsis* sp. *Chondracanthus acicularis*, *C. elegans*, *Acanthophora muscoides*, *Arthrocardia gardnerii*, *Bryothamnion seafortii*, *Bryothamnion triquetum*, *Cryptonemia crenulata*, *Dichotomaria marginata*, *Digenea simplex*, *Gelidium crinale*, *Gelidium floridanum*, *Jania adhaerens*, *J. crassa*, *J. cubensis*, *J. subulata*, *Laurencia dendroidea*, *L. filiformis*, *Osmundaria obtusiloba*, *Palisada flagellifera*, *P. perforata*, *Pterocliadiella capillacea*, *Solieria filiformis*, *Spydiria clavata* e *Tricleocarpa cilíndrica*. Dessa maneira, estas informações podem ser agregadas à

base de dados de ocorrência de aminoácidos do tipo micosporina proposta e manejada por Sinha et al. (2007).

Das espécies conhecidas por sintetizarem MAAs, destacam-se as espécies de *Porphyra* que apresenta altos teores de MAAs, principalmente a *Porphyra*-334. Exemplos já utilizados como produtos biotecnológicos são: *Porphyra umbilicalis*, na qual seus MAAs compõem um protetor solar já comercializado Helioguard® 365; *Porphyra vietnamensis*, a qual produz um excelente composto protetor contra os efeitos da radiação solar em um gel composto por *Aloe vera* (Bhatia et al., 2010) e *Porphyra leucosticta*, a qual é utilizada para fazer padrões secundários para identificação do composto *Porphyra*-334 (Figueroa et al., 1997).

O MAA Asterina-330 encontrado em *Gelidium corneum* se destaca por apresentar alta capacidade antioxidante (De la Coba et al., 2009). Em contrapartida, para *Gelidium amansii*, o MAA Shinorina não apresenta capacidade antioxidante perante o stress oxidativo (Lee & Shui, 2009), sendo esta característica variável entre espécies de um mesmo gênero e entre os tipos de MAAs. Não encontramos na literatura referências sobre a ocorrência de MAAs nas espécies de *Gelidium crinale* e *G. floridanum* analisadas neste estudo, embora outros compostos como as galactanas sulfatadas e polissacarídeos da família dos ficocolóides (ágar) já sejam estudadas para *G. crinale* (Rajasulochana & Preethy, 2015).

As análises em *Pterocladia capillacea* apresentaram concentrações em torno de 1,3 mg MAA g⁻¹ DW, em que *Porphyra*-334 foi o MAA majoritário. *Pterocladia capillacea* foi efetiva na captura de compostos oxidantes quando submetida a stress por radiação UV-B, além de apresentar proteção contra a irradiância, principalmente pela presença de *Porphyra*-334 (Lee & Shiu, 2009).

Aminoácidos do tipo micosporina já foram reportados em diversas espécies de *Gracilaria*. No entanto, a aplicação com os MAAs é praticamente inexistente sendo o uso biotecnológico dessas espécies focado na extração de ficocolóides (Kain & Destombe, 1995), lipídeos (Yotsuyamashita et al., 1993) e metabólitos bioativos (Glombitza, 1979). Neste trabalho, as espécies *G. domingensis* e *G. caudata*, assim como *Hydropuntia cornea*, apresentaram concentrações consideráveis de MAAs, mas ainda não existem estudos que comprovem a eficácia biológica dos MAAs

presentes nestas espécies.

As espécies *Gelidiopsis* sp. e *Laurencia* sp. do Atol das Rocas, embora tenham apresentado altas concentrações de MAAs e grande diversidade de moléculas, devem ser estudadas em nível ecológico. O uso aplicado desta espécie, assim como sua coleta são restritos, sendo necessário autorização para o estudo pelo local se tratar de uma unidade de conservação da biodiversidade marinha.

As espécies *Hypnea musciformis*, *Chondracanthus acicularis*, *C. teedei*, *C. elegans*, *Acanthophora muscoides*, *Centroceras clavulatum* e *Spyridia clavata*, oriundas da costa brasileira, foram consideradas interessantes para a prospecção levando em consideração a concentração de MAAs.

Não encontramos um padrão com relação a algum fator abiótico isolado que explique o conteúdo de MAAs dentre todas as amostras analisadas em conjunto. Concluímos que o conteúdo de MAAs varia de acordo com a espécie, assim como em relação às diferentes condições ambientais que as espécies estão expostas, assim como observado para as algas vermelhas por Hoyer et al. (2001), e recentemente para espécies de fito e zooplâncton por Fileman et al. (2017).

Apenas na análise isolada para a sub-região nordeste, a radiação ultravioleta e os níveis de pH básico foram correlacionados a altas concentrações de MAAs nas espécies *Laurencia* sp., e *Gelidiopsis* sp. proveniente das ilhas oceânicas. Estes resultados demonstram um esforço molecular ecofisiológico frente à forte influencia que a radiação ultravioleta possui em ambientes de recifes tropicais com características oligotróficas (Karsten et al., 1998; Banaszak & Lesser, 2009; Moreau et al., 2016), como no Atol das Rocas RN e em Fernando de Noronha RN. No entanto, considerando todas as 441 quantificações de MAAs, não encontramos correlação direta entre o índice ultravioleta e a concentração de MAAs. Isso pode estar relacionado ao histórico da irradiância no ambiente (Llewellyn et al., 2012), uma vez que as macroalgas podem levar até semanas para concluir a expressão de MAAs (Karsten & Wiencke, 1999; Shick, 2004).

Devido às altas doses de radiação incidente em regiões próximas ao equador, supõe-se que as algas destes sítios apresentam maiores concentrações de MAAs do que aquelas de

latitudes mais baixas (Hoyer et al., 2001; Korbee et al., 2006). Na sub-região nordeste (NE), localizada entre as latitudes 4° e 12°S, obtivemos as menores concentrações de MAAs do que em todas as outras 3 sub-regiões analisadas. Com exceção da espécie *Gracilaria domingensis*, as espécies da sub-região sudeste (SE) e Sul (S), apresentaram maiores concentrações do que àquelas provenientes da sub-região NE.

Os maiores valores de salinidade e de temperatura superficial da água do mar da sub-região NE podem ter influenciado de forma negativa a concentração de MAAs (Bandanarayake et al., 1998; Portwich & Garcia-Pichel, 1999). Já foram relatados efeitos negativos de maior salinidade no conteúdo de pigmentos fotossintéticos de rodofíceas (Ding et al., 2013; Ismail et al., 2016). Nas espécies coletadas no nordeste, baixos teores de MAA podem estar relacionadas a outros mecanismos de prevenção contra radiação, como por exemplo as modificações estruturais e morfológicas (Navarro et al., 2010b), a fotodegradação de pigmentos acessórios (Figueroa et al., 1997), a fotoinibição dinâmica (Figueroa & Gómez, 2001) e o incremento de carotenoides (Lee & Shiu, 2009). Tais características não foram avaliadas neste trabalho.

As concentrações de nutrientes na água do mar, principalmente nitrogênio inorgânico, são correlacionados às maiores concentrações de MAAs (Korbee et al., 2006), sendo inclusive responsável pela indução da síntese destes compostos (Korbee-Peinado et al., 2004). Ao analisarmos 441 concentrações de MAAs em diferentes espécies, encontramos correlação entre a concentração de nitrato e fosfato e o conteúdo de MAAs, através da análise de GLM. No entanto, a explicabilidade do modelo foi baixa e isso pode ser atribuído ao fator de síntese espécie-específico (e.g., este estudo, Hoyer et al., 2001), onde mais de um fator pode induzir a síntese destes compostos de forma positiva ou negativa (Bonomi-Barufi et al., 2011). As sub-regiões Sudeste e Sul do Brasil apresentaram maiores concentração de nutrientes (nitrato, fosfato, silicato) e oxigênio dissolvido, comparadas a sub-região nordeste. As maiores concentrações de MAAs foram obtidas nas espécies de *Hypnea musciformis*, *Centroceras clavulatum*, espécies de *Jania*, *Gelidium* e *Palisada* provenientes das sub-regiões sudeste e sul, se comparadas às do NE.

Regiões costeiras influenciadas pelas ressurgências possuem fenômenos de alta variação de temperatura superficial da água, entrada de águas enriquecidas por nutrientes, menor salinidade e geralmente uma alta diversidade biológica (Castro et al., 2006). Na sub-região Sudeste, ocorre a principal ressurgência da costa do Brasil que influi exatamente sobre Arraial do Cabo, RJ, onde está localizada a praia do Forno (Brasileiro et al., 2009), da qual obtivemos altos valores no conteúdo e na diversidade de MAAs nas diferentes espécies analisadas. Na região Sul, ocorre outra ressurgência que enriquece o ambiente marinho com concentrações de nitrato, fosfato, oxigênio dissolvido, e maiores variações na temperatura superficial da água do mar (Amaral & Jablonski, 2005; Castro et al., 2006) onde encontramos os maiores valores de concentração de MAAs da sub-região Sul, no Farol de Santa Marta – SC.

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A expressão de MAAs é variável e oscila em relação às diferentes regiões geográficas, aos fatores abióticos incidentes e em relação a cada espécie analisada. Neste trabalho, procuramos encontrar um padrão geral de síntese de MAAs englobando diversas espécies, mas concluímos que a melhor abordagem seria utilizar as mesmas espécies coletadas em todos os pontos de coleta. Mesmo assim, em 39 espécies e 441 análises, os maiores valores de MAAs foram relacionados às regiões de maior concentração de nutrientes e maiores oscilações na temperatura superficial da água do mar. Apenas quando analisamos de maneira a diminuir a escala geográfica de observação, caracterizando sub-regiões geográficas, os resultados nos indicaram a radiação ultravioleta e o pH básico como fatores relacionados às concentrações de MAAs.

Ademais, relatamos a presença dos MAAs em diversas espécies pela primeira vez.

3. INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NA CONCENTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO DE MAAs EM *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamouroux, AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA

3.1. INTRODUÇÃO

Hypnea J. V. Lamouroux é o gênero de algas vermelhas mais diverso da família Cystocloniaceae com 61 espécies válidas (Guiry & Guiry, 2017), e representa um grupo muito bem estudado morfológicamente em todo o mundo (Tanaka, 1941; Masuda et al., 1997; Dawes & Mathieson, 2008; Jesus et al., 2015). Alguns impasses encontrados quando se delimitam as espécies de *Hypnea* ocorrem pela morfologia simples, e pelo alto grau de plasticidade fenotípica entre indivíduos da mesma espécie, que geralmente advém por influência de fatores ambientais (Cordeiro-Marino, 1978). Recentemente diversos estudos moleculares têm esclarecido a sistemática deste grupo, o qual é amplamente distribuído pelos mares tropicais e subtropicais (Geraldino et al., 2010; Nauer et al., 2014, 2015; Jesus et al., 2015). No litoral brasileiro são reconhecidas oito espécies de *Hypnea* (Nunes et al., 2013).

Hypnea musciformis (Wulfen) J. V. Lamouroux além de ser a espécie-tipo do gênero, é uma alga predominante do nordeste ao sul da costa brasileira e na maior parte do mundo (Lamouroux, 1812; Caires et al., 2013; Maharana et al., 2015). As características morfológicas de talo altamente ramificado de forma irregular, e as gavinhas nas extremidades, permitem a esta espécie se aderir e se desenvolver em diversos substratos, inclusive como epífita em outras algas como em *Sargassum* spp. (Faccini & Berchez, 2000; Reis et al., 2008). É encontrada com frequência no infralitoral crescendo em densos filamentos emaranhados, sendo muitas vezes, a espécie dominante na comunidade (Guist et al., 1982; Schenkman, 1989). Representa uma espécie amplamente explorada do ponto de vista científico em estudos taxonômicos e filogenéticos (Nauer et al., 2014, 2015), ecofisiológicos (Yokoya et al., 2007; Favari et al., 2015; Castellar et al., 2016), e pela aplicação industrial de seus subprodutos, como a κ carragenana e a hypnean, entre outros compostos de interesse farmacêutico (Guist et al., 1982; Berchez et al., 1993; Alves et al., 2012; Stortz et al., 2017). *Hypnea musciformis* é a alga carragenófito mais abundante no litoral brasileiro. (Oliveira,

1998; Alves et al., 2012). Os estudos aplicados vêm sendo desenvolvidos a muito tempo e a atual diversidade de trabalhos com substâncias sintetizadas pela espécie tem demonstrado potencial para indústria biotecnológica (Nagano et al., 2005; Chakraborty et al., 2013; Cosenza et al., 2016). Sobretudo porque *H. musciformis* é capaz de crescer em ambientes enriquecidos por nutrientes como amônio, nitrato e fósforo e atingir taxa de crescimento diário de $10,8 \pm 0,6\%$ dia⁻¹, maior do que a observada para *Kappaphycus alvarezii* (alga mundialmente utilizada para o cultivo e extração de carragenana), e com maior eficiência em retirar nutrientes do meio de crescimento (Castelar et al., 2015). Dessa forma, além do âmbito de produção de compostos de interesse biotecnológico, *H. musciformis* pode ser utilizada para biorremediar ambientes marinhos costeiros, melhorando a qualidade de águas enriquecidas por sistemas de produção de aquicultura, agricultura, e disponibilizando biomassa para a extração dos seus subprodutos de ordem sustentável. Todavia, Castelar et al., (2015) sugerem que *H. musciformis* seja utilizada em cultivos sob condições controladas devido a dificuldade de cultivá-la no ambiente natural.

A acumulação de aminoácidos do tipo micosporina em *H. musciformis* ainda não foi elucidada na literatura. Para as algas vermelhas, os fatores que precedem a indução do acúmulo de MAAs são as frações azul de PAR e a RUV, bem como a disponibilidade de nitrogênio inorgânico (Karsten & Wiencke, 1999; Korbee et al., 2006; Figueroa et al., 2008). Adicionalmente, outras variáveis ambientais como a temperatura, salinidade e nutrientes também podem influenciar os níveis de concentração destes compostos (Karsten et al., 2003; Bandanarayake et al., 1998; Bonomi-Barufi et al., 2011). Considerando o papel dos MAAs como fotoprotetores naturais contra o excesso de radiação ultravioleta, os estudos quase sempre são realizados avaliando a influência da irradiância na concentração e nos tipos de MAAs (Gröninger et al., 1999).

Mesmo assim, trabalhos que avaliam a influência de outros fatores abióticos do ponto de vista ecológico no acúmulo de MAAs são quase inexistentes. Diversas funções são atribuídas a esses compostos, tais como: agir como reserva de N, atividade antioxidante, regulação osmótica e a proteção contra a dessecação (Oren & Gunde-Cimerman, 2007). A avaliação de múltiplos fatores

agindo em sinergia pode ser interessante do ponto de vista evolutivo, fisiológico e de produtividade, pois permite a progressão na obtenção de maiores concentrações de MAAs junto aos tratamentos com os diferentes tipos de irradiância. Recentemente, o AMT (do inglês, *Atlantic Meridional Transect*) investigou como se comportam algumas variáveis ambientais ao longo do Oceano Atlântico relacionando-as com o conteúdo de MAAs em espécies de fitoplâncton e zooplâncton. Foram reportados maiores concentrações de nitrato, fósforo, clorofila superficial e atenuação difusa da luz solar nas regiões temperadas, e maiores valores de temperatura e de UV-A nas regiões tropicais. Maiores teores de MAAs no fitoplâncton foram reportadas para as regiões tropicais, enquanto que para o zooplâncton foram reportadas para as regiões temperadas do Norte e Sul (Fileman et al., 2017).

Nesse sentido, o fundamento deste estudo é elucidar a variação na concentração e na diversidade de aminoácidos do tipo micosporina em *Hypnea musciformis* ao longo de um gradiente de latitude. Para isso, uma série de variáveis ambientais que influem sobre os diferentes locais da região costeira do Brasil foram relacionados aos resultados obtidos na quantificação e identificação dos compostos. Este trabalho pretendeu disponibilizar informações a respeito da distribuição de MAAs em espécimes de *H. musciformis* de diferentes locais da costa brasileira, dos melhores locais para cultivo e produção dos MAAs de *H. musciformis* na costa, e das melhores combinações de variáveis abióticas para o seu cultivo sob condições controladas para produção de MAAs.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras em triplicatas foram coletadas em 21 pontos ao longo da costa brasileira, durante os meses de verão de 2015, com exceção da Ilha de Fernando de Noronha PE e Atol das Rocas RN (Tabela 2.1). Material adicional foi coletado para o depósito no herbário FLOR da UFSC (Universidade Federal de Santa Catarina). A metodologia de coleta e identificação das espécies e as análises de quantificação e identificação de MAAs seguem as mesmas diretrizes descritas no item Material e Métodos do capítulo 2. Neste trabalho, foram também analisados os teores de C e N das amostras de *H. musciformis*. Os procedimentos exclusivos deste capítulo são

detalhados a seguir.

3.2.1 Análise elementar de C:N

Amostras secas de *Hypnea musciformis* foram maceradas e o conteúdo sólido inserido dentro de tubos *ependorf*. Cerca de 1-2 g foram usadas para determinar a quantidade de cada elemento de peso seco (mg g^{-1} DW). O conteúdo foi determinado pelo analisador, LECO CHNS-932, SCAI (*Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación*) da Universidad de Málaga.

3.2.2. Análise estatística de MAAs totais

A primeira abordagem foi aplicar o teste de normalidade para observar a distribuição dos dados (mg MAAs gDW^{-1}) a partir dos valores de variância das triplicatas. Em seguida, foi aplicada a ANOVA unifatorial utilizando o local de coleta como fator. O teste *a posteriori* de Newman-Keuls foi feito para detectar quais valores da média, dentre os observados para concentração de MAAs em *H. musciformis*, diferiram significativamente entre si nos diferentes pontos de amostragem. Os testes de normalidade, ANOVA e Newman-Keuls foram feitas no programa *Statistica 13*.

Os dados de MAAs foram relacionados ao total de N, atingindo o total de mg MAA gN^{-1} . Para identificar uma eventual tendência latitudinal na concentração de MAAs em *H. musciformis*, foram calculados os valores do coeficiente de determinação (R^2) com os valores de $\text{mg MAAs g}^{-1}\text{DW}$ e os valores de mg MAA gN^{-1} , e os pontos de coleta como variável independente. Foi aplicada ANOVA unifatorial para confirmar diferenças significativas nos valores de concentração de MAAs por ponto de coleta no gradiente latitudinal.

Com os valores de MAAs como fator, testamos ANOVA utilizando a hipótese das sub-regiões propostas no capítulo 2. Agrupamos os valores das amostras ao longo da latitude nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul. O teste *a posteriori* de Newman-Keuls detectou as diferenças na concentração de MAAs por região.

3.2.3. Tratamento das variáveis ambientais e análise estatística

Para investigar quais fatores influem sobre os diferentes locais de amostragem na latitude, foram utilizados os dados máximos, mínimos e a variância dos preditores ambientais

relacionando-os ao conteúdo de MAAs. Calculamos o coeficiente de correlação através da análise de correlação linear de Pearson feita com valores de Calcita, Clorofila, Nebulosidade, Atenuação difusa, Oxigênio dissolvido, Nitrato, PAR, pH, Fosfato, Salinidade, Silicato, Temperatura superficial do mar, IUV e razão N:P, de MAAs totais (mg MAAs gDW⁻¹), MAAs por Nitrogênio interno (mg MAA gN⁻¹), e para os tipos de MAAs (Paliteno, Micosporina-glicina, Palitina, Asterina-330, Shinorina e Porfira-334). Os valores que apresentaram correlação significativa com os MAAs (p<0,05) foram utilizados para aplicar a análise de regressão linear.

A análise de regressão linear seguiu apenas com os preditores relevantes para explicar a concentração de MAAs que apresentaram correlações significativas. Esta análise foi feita para se obter uma relação funcional entre cada variável independente e o conteúdo de MAAs de maneira individual. Sendo assim, procuramos obter uma equação explicativa à dispersão dos valores da variável dependente (MAAs), pela variação dos níveis das variáveis independentes. Em seguida, utilizamos as variáveis com os valores de AIC obtidos na tabela de regressão linear para o delineamento de um modelo ajustado para ser utilizado na análise de GLM (do inglês, General Linear Model). A GLM foi a análise selecionada para descrever a relação estatística entre os preditores mais explicativos, observados após as análises citadas acima, e a variação na concentração de MAAs. O modelo utilizado foi: MAA (como variável resposta), em função dos preditores: oxigênio dissolvido, nitrato, fosfato, silicato, variação da temperatura superficial, atenuação difusa mínima e clorofila mínima. As análises de correlação, regressão linear simples, múltipla e GLM foram feitas no programa *Statistica 13*.

3.2.4. Análise de PCA

Para a análise de PCA (do inglês, *Principal Component Analysis*) utilizamos as variáveis: PAR= *Photossynthetically active radiation*, CAL= Calcita, CHLO= Valores máximos de Clorofila, CLOUD= Nebulosidade, SSTv= Variação da temperatura superficial da água do mar, N:P= Razão entre Nitrogênio e Fosfato no ambiente, SIL= Silicato, FOS= Fosfato, O2= Oxigênio dissolvido, NIT= Nitrato, DA= máximos valores de atenuação difusa, IUV=Índice ultravioleta,

SAL= Salinidade, SSTm= valores máximos de temperatura superficial da água do mar. Foi aplicada a normalização dos dados para melhor distribuição das variáveis. A análise de PCA foi feita a partir da função 'rda' do pacote 'vegan' através do programa R. Foram adicionados os valores de MAAs totais e a fração de cada tipo de MAAs para observar a distribuição junto aos valores dos preditores ambientais.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Conteúdo de MAAs

O conteúdo de MAAs em *H. musciformis* variou de 0,0029 a 3,55 mg MAAs gDW⁻¹ entre as 21 praias amostradas durante o verão de 2015 ao longo da costa brasileira. Diferenças significativas entre os valores de concentração e os locais (fator) foram detectadas pela ANOVA unifatorial ($p < 0,05$). O teste *a posteriori* Newman Keuls indicou as diferenças entre os valores das médias (Figura 3.1). Com exceção da amostra da praia da Pipa-RN (0,92 mg MAAs gDW⁻¹), todos os espécimes coletados nas praias ao norte da latitude 20°S obtiveram concentrações abaixo de 0,35 mg MAAs gDW⁻¹. Os espécimes coletados abaixo da latitude 20°S da costa brasileira apresentaram significativamente maiores concentrações de MAAs quando comparados as amostras ao norte da latitude 20°S (Figura 3.1).

A regressão linear com os valores da concentração de mg MAA gDW⁻¹ e mg MAA gN⁻¹ apresentaram respectivamente, os valores de coeficiente de determinação ($R^2=0,69$) e ($R^2=0,61$) usando latitude como fator, demonstrando a tendência no aumento dos valores na concentração de MAAs de *H. musciformis* para as latitudes mais baixas (Figura 3.2), confirmadas pela análise de ANOVA unifatorial.

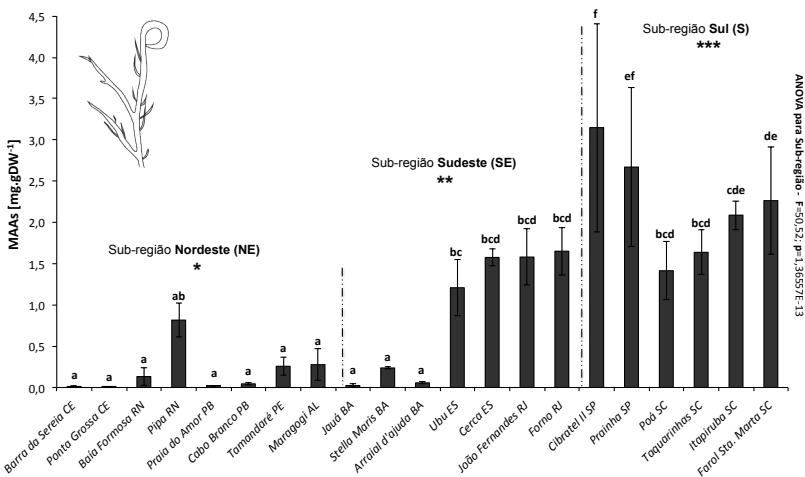


Figura 3.1 Concentração de MAAs em *Hypnea musciformis* nos diferentes pontos de coleta, representados por praia e estado. Os valores são expressados em mg MAA g DW⁻¹, seguindo a ordem de ocorrência. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). $n=3$. As barras indicam os desvios padrão.

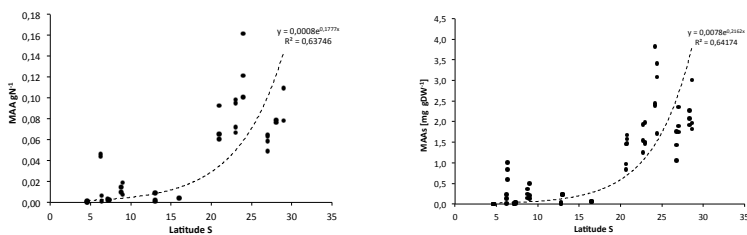


Figura 3.2 Análise de regressão linear e os valores do coeficiente de determinação (R^2) para a regressão linear e exponencial, entre os valores de latitude (fator) e de MAAs de *Hypnea musciformis*, expressados em mg g de massa seca de alga. A figura demonstra a tendência no aumento da concentração de mg MAA gDW⁻¹ ($F= 3,88019$, $p= 0,001612$) e mg MAA gN⁻¹ ($F=4,21801$, $p=0,002152$), com o aumento da latitude S.

Foram identificados 6 tipos de MAA nas espécies de *H. musciformis* (Figura 3.3). Os tipos de MAA variaram ao longo dos locais de coleta ($p < 0,05$) tal como observado para os valores de MAA totais. O MAA paliteno, foi identificado apenas em amostras do nordeste nas praias de Ponta Grossa e Barra da Sereia (Lat. 4°S) e na Praia do Amor e Cabo Branco na PB (Lat. 7°S). Traços de Porfira-334 (0,009 MAA mg g DW⁻¹) foram identificados apenas na amostra das praias de Arraial D'Ajuda - BA, Ubu - ES e Pipa - RN. O teste de Newman-Keuls detectou as diferenças entre a concentração do tipo de MAAs por local. As variações foram observadas principalmente para Palitina e Asterina-330 em relação à Shinorina (Figura 3.4).

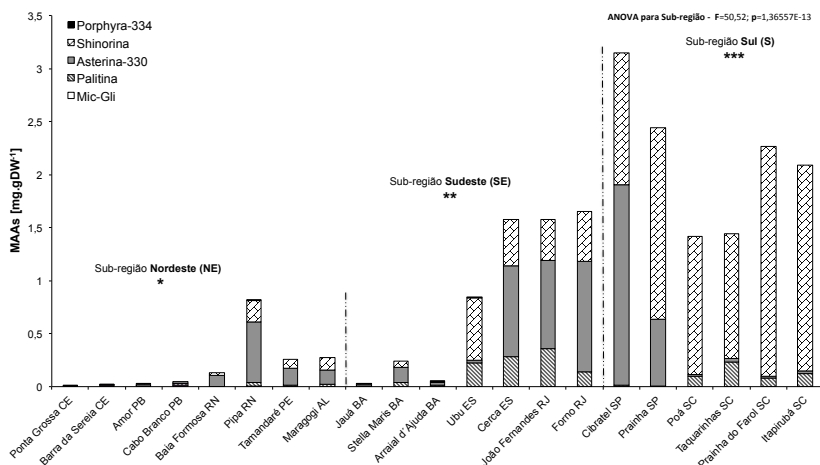


Figura 3.3 Valores das médias da concentração de MAAs em *Hypnea musciformis* encontrados nas respectivas praias e estado. Os gráficos de barras são apresentados em ordem da região Norte (Lat. 3°S) para a região Sul (Lat. 28,5°S). A fração de cada tipo de MAAs é representada pelas diferentes cores/texturas. n=3.

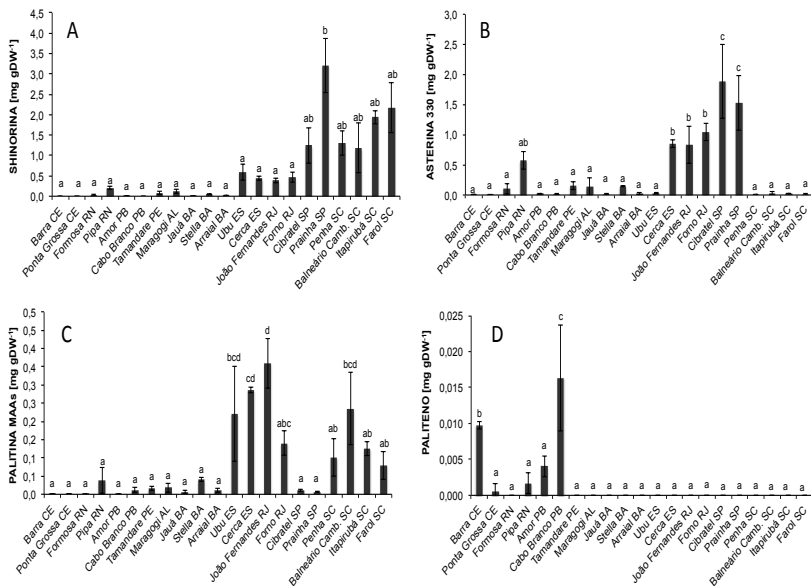


Figura 3.4. Fração de cada tipo de MAA em *Hypnea musciformis* nos diferentes locais de coleta (Praia + Estado). A - Concentração de Shinorina nas amostras dos respectivos pontos de coleta. B - Fração de Asterina-330 nos respectivos locais de coleta. C - Concentração de Palitina. D - concentração de Paliteno. Os dados estão dispostos em ordem de ocorrência. Letras diferentes indicam diferenças significativas observadas com o teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$). $n=3$.

3.3.2. Parâmetros Abióticos

As informações obtidas da base de dados ambientais marinhos *BioORACLE* (Tyberghein et al. 2012) para os locais de coleta englobaram um gradiente latitudinal entre 3°8' e 28°5' S. A SST (do inglês, *Sea Surface Temperature*) ao longo dos pontos de coleta variou entre 29,7 e 17,6°C, sendo que as maiores variações de temperatura foram reportadas na latitude 28°5'S (8,1°C). Valores de PAR variaram entre 57 e 46 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{d}^{-1}$. Maiores valores foram reportados nas latitudes abaixo de 20°S, sendo os menores nas praias do estado de SP (24°S). O \u00edndice ultravioleta apresentou varia\u00e7\u00e3o entre 10,5 e 0,6. O teor de oxig\u00eanio dissolvido variou entre 5,3 e 4,5 mg L^{-1} , sendo os maiores valores encontrados na latitude

28°5'S.

A concentração superficial de nitrato variou entre 0,861 até 1,601 $\mu\text{mol L}^{-1}$ entre 3°8' e 28°5'S, aumentando para a região subtropical a partir da latitude 20°S. Silicato e fosfato seguiram o mesmo padrão, variando entre 0,11 - 0,30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 2,0 - 5,82 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A clorofila superficial (chl a) foi mensurada entre 0,083 e 6,9 mg m^3 .

3.3.3 Análise de PCA

As principais influências físico-químicas de 15 preditores ambientais na composição das MAAs em *Hypnea musciformis* são apresentadas por meio de uma análise de PCA para explicar a variação geográfica dessas respostas (Figura 3.5.). A análise de componentes principais demonstra dois principais gradientes que claramente separam as praias nas latitudes 3,8° a 16,4°S e entre a latitude 20,6° e 28,5°S. As variáveis separadas ao longo do primeiro gradiente estão na direção contrária a maiores concentrações de MAAs, enquanto que as variáveis separadas para o segundo gradiente estão em concordância e são positivamente correlacionadas com os valores de MAAs.

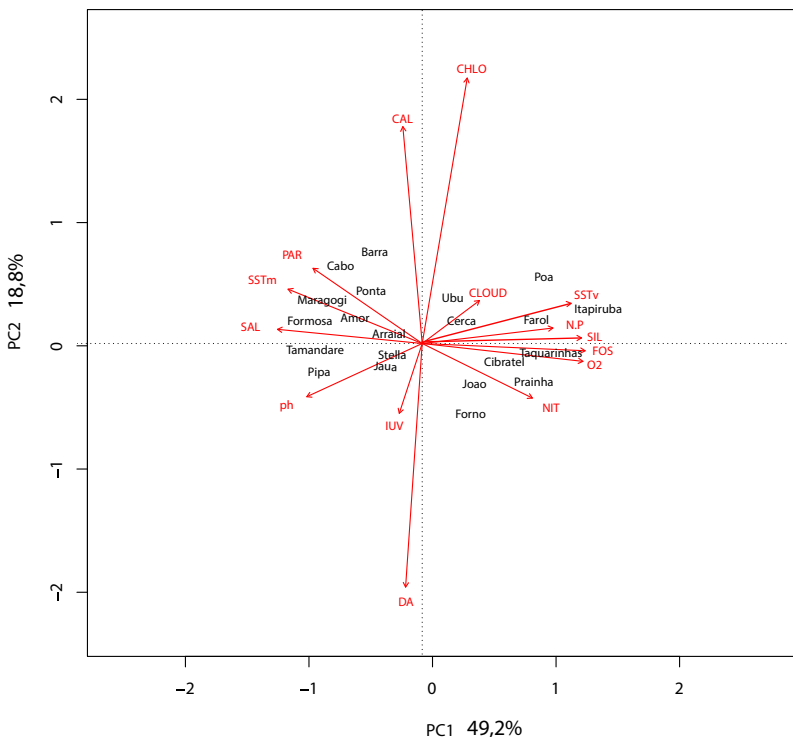


Figura 3.5 Análise de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais que incidem sobre os 21 pontos de coleta. Os nomes das praias estão descritos na parte central da figura. A intensidade das variáveis ambientais está de acordo com o comprimento da flecha. PAR= *Photosynthetically active radiation*, CAL= Calcita, CHLO= Valores máximos de Clorofila, CLOUD= Nebulosidade, SSTv= Variação da temperatura superficial da água do mar, N:P= Razão entre Nitrogênio e Fósforo no ambiente, SIL= Silicato, FOS= Fósforo, O₂= Oxigênio dissolvido, NIT= Nitrato, DA= máximos valores de atenuação difusa, IUV=Índice ultravioleta, SAL= Salinidade, SSTm= valores máximos de temperatura superficial da água do mar.

3.3.4. Fatores ambientais que afetam a distribuição das MAAs

Os valores de MAAs que apresentaram correlações com fatores abióticos são apresentados na tabela 3.1. Maiores concentrações de mg MAAs g DW⁻¹ em *H. musciformis* apresentaram forte correlação positiva com os valores de fósforo (0,88), silicato

(0,87), oxigênio dissolvido (0,83) e SSTv (0,77). Houve forte correlação negativa com a latitude, PAR, salinidade (-0,83) e SSTmi (-0,82). Os valores de mg MAAs N⁻¹ seguiram o mesmo padrão, e destaca-se maior correlação com os valores de nitrato (0,81) se comparados a mg MAA g DW⁻¹.

Com relação ao tipo de MAA, encontramos correlações para palitina (0,52) e asterina-330 (0,76) relacionadas a maiores valores de nitrato, enquanto shinorina (0,42) não apresentou resultado significativo ao valor de p<0,05. Asterina-330 e Shinorina apresentaram correlação negativa com PAR. Shinorina e Palitina foram negativamente correlacionados à latitude S e SSTmi. Valores de correlação muito forte foram observados em Shinorina com a SSTv (0,92) e silicato (0,91), e forte, como o fosfato (0,87), a salinidade (-0,87) e oxigênio dissolvido (0,85).

Tabela 3.1. Correlação Linear de Pearson. No eixo vertical estão a latitude, MAAs totais, e os tipos de MAAs. No eixo horizontal, as variáveis ambientais significativas, a latitude e os valores de MAAs totais.

	MAAs/DW	MAAs/N	Shinorina	Asterina-330	Palitina	Mic-Gli	CLOM	CLOm	DAmI	O2	NIT	PAR	pH	FOS	SAL	SIL	SSTm	SSTmi	SSTv	lUV	Np
MAAs/DW	1,00	0,97	0,86	0,68	0,51	0,18	0,34	0,65	0,60	0,83	0,77	-0,85	-0,56	0,88	-0,83	0,87	-0,71	-0,82	0,77	0,10	-0,53
MAAs/N		1,00	0,81	0,60	0,43	0,08	0,25	0,54	0,49	0,78	0,81	-0,77	-0,48	0,83	-0,79	0,79	-0,73	-0,76	0,86	0,01	-0,44
Shinorina			1,00	0,33	0,33	0,13	0,50	0,60	0,59	0,85	0,42	-0,68	-0,59	0,87	-0,86	0,91	-0,73	-0,91	0,92	0,10	-0,74
Asterina-330				1,00	0,40	0,12	0,02	-0,38	0,34	0,31	0,77	-0,60	-0,02	0,36	0,30	0,32	-0,23	-0,20	0,14	0,17	0,68
Palitina					1,00	0,25	0,01	0,02	0,04	0,55	0,52	-0,07	-0,35	0,55	-0,43	0,31	-0,68	-0,50	0,26	-0,44	-0,34
Mic-Gli						1,00	0,10	-0,14	-0,14	-0,02	-0,09	0,10	0,29	-0,23	0,16	-0,20	0,23	0,20	-0,15	0,37	0,30
CLOM							1,00	0,70	0,73	0,32	0,15	-0,41	-0,32	0,40	-0,51	0,50	-0,10	-0,34	0,49	0,25	-0,50
CLOm								1,00	0,98	0,52	0,46	-0,78	-0,53	0,59	-0,62	0,73	-0,15	-0,45	0,62	0,26	-0,43
DAmI									1,00	0,56	0,43	-0,71	-0,55	0,62	-0,64	0,74	-0,21	-0,48	0,63	0,21	-0,51
O2										1,00	0,61	-0,62	-0,65	0,89	-0,80	0,94	-0,88	-0,98	0,90	0,01	-0,81
NIT											1,00	-0,76	-0,26	0,66	-0,62	0,58	-0,53	-0,50	0,59	0,14	-0,09
PAR												1,00	0,39	-0,69	0,70	-0,78	0,55	0,56	-0,65	-0,46	0,28
pH													1,00	-0,66	0,39	-0,64	0,57	0,63	-0,57	0,25	0,76
FOS														1,00	-0,82	0,85	-0,85	-0,96	0,90	0,03	-0,77
SAL															1,00	-0,93	0,71	0,89	-0,90	-0,18	0,64
SIL																1,00	-0,69	-0,92	0,96	0,20	-0,76
SSTm																	1,00	0,89	-0,65	0,25	0,71
SSTmi																		1,00	-0,82	-0,02	0,83
SSTv																			1,00	0,25	-0,79
lUV																				1,00	0,22
Np																					1,00

Valores significativos a p<0,05 estão em negrito. N=21.

Onze variáveis ambientais foram significativas na análise de regressão linear para valores de p<0,05. As principais relações com valores de R² maiores do que 0,6 foram: Oxigênio dissolvido, PAR, fósforo, salinidade e silicato. Estes resultados indicam uma explicação matemática para os valores de MAAs relacionado a fatores abióticos de forma isolada. Assim, pode-se interpretar o aumento de MAAs relacionado a diferenças nas unidades das variáveis, que podem ser positivas ou negativas (Figura 3.6).

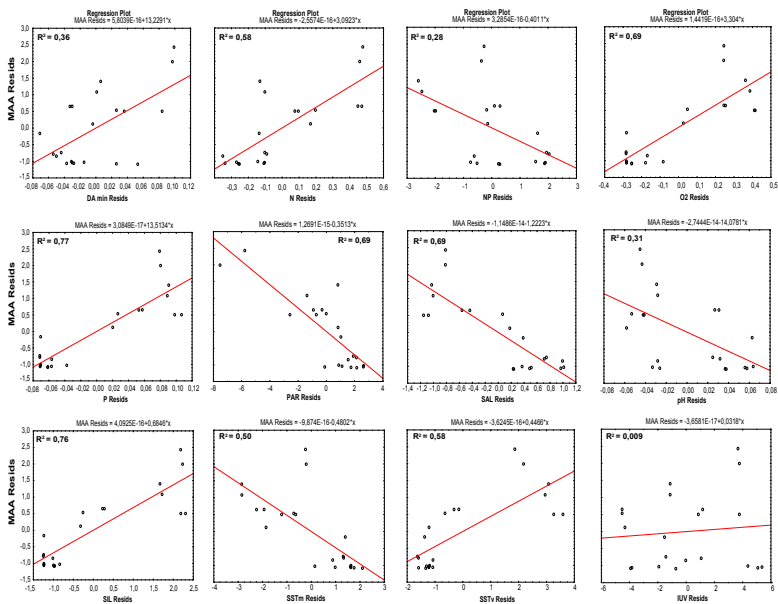


Figura 3.6. Gráficos de regressão linear simples. A concentração de MAAs representa a variável dependente (Y) em função das diferentes variáveis ambientais (X). As equações das retas obtidas a partir dos dados coletados são representadas acima de cada gráfico. O valor de R² indica a porcentagem da variação de Y que pode ser explicada pela variação de X.

A análise de GLM detectou a interação entre as variáveis na concentração de MAAs totais de *H. musciformis*. Foram significativas as variáveis oxigênio dissolvido (0,002), fosfato (0,004) e silicato (0,02), indicando que estas três variáveis agiram de maneira conjunta na influência do acúmulo de MAAs (Tab. 3.2). A análise de GLM com MAA como variável dependente apresentou significância para a fórmula que englobou os fatores DA, O2, pH, FOS e SAL. Uma análise multivariada para a interação entre duas importantes variáveis (FOS e O2) em relação a concentração de MAAs, demonstrou a forte correlação entre as variáveis (Figura 3.7).

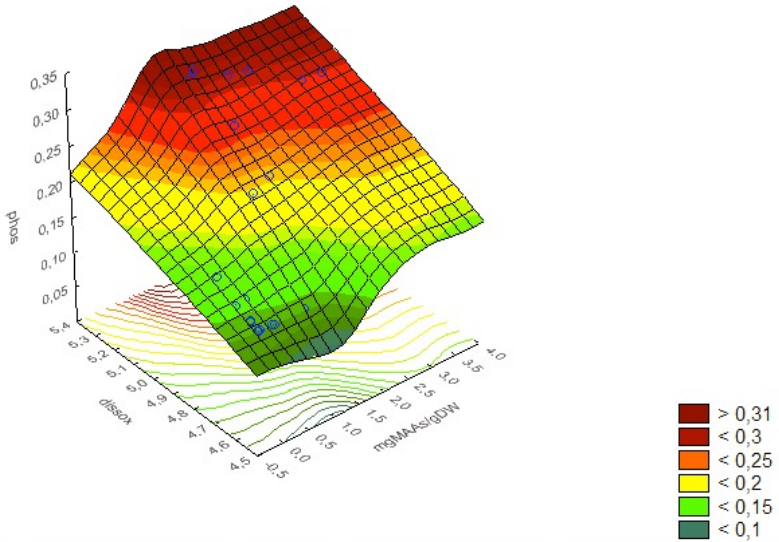


Figura 3.7. Imagem em superfície 3D da análise multivariada das médias para interação entre as variáveis phos= fosfato ($\mu\text{mol L}^{-1}$) e dissox= oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e a quantidade de MAAs em *Hypnea musciformis* (mg MAA g DW^{-1} vs. Dissox vs. Phos) Phos = Distância ponderada dos mínimos quadrados. $n=21$.

Tabela 3.2. Análise de GLM feita a partir das variáveis significativas para a regressão linear. É apresentado o melhor modelo encontrado para explicar maiores concentrações de MAAs em *Hypnea musciformis* em relação as variáveis abióticas que incidem nos diferentes pontos de coleta na costa brasileira. O valor de R² indica o poder explicativo do modelo. Força (alpha=0,05) indica a intensidade de cada variável na influência da concentração de MAAs. Valores em **negrito** são significativos a p<0,05. n=64.

Modelo = (MAAs ~ CLOv + DA + O2 + NIT + PAR + pH + FOS + SAL + SIL + SSTv)

	SS	MS	F	p	Força (alpha=0,05)
Intercept	0,7561	0,7561	5,0821	0,0284	0,5997
CLOv	0,0710	0,0710	0,4771	0,4928	0,1041
DA	1,6823	1,6823	11,3075	0,0015	0,9099
O2	1,4431	1,4431	9,6996	0,0030	0,8636
NIT	0,2534	0,2534	1,7033	0,1976	0,2492
PAR	0,0373	0,0373	0,2509	0,6185	0,0781
pH	0,8830	0,8830	5,9349	0,0183	0,6668
FOS	1,4511	1,4511	9,7534	0,0029	0,8654
SAL	0,8522	0,8522	5,7277	0,0203	0,6513
SIL	0,2128	0,2128	1,4304	0,2371	0,2168
SSTv	0,0011	0,0011	0,0072	0,9329	0,0508
Observações					64
Modelo SS vs. Resíduo SS					R² = 0,9098
Família					Normal (log)

Legenda: MAAs= Aminoácidos tipo micosporina, CLOv= variação da clorofila, DA= Atenuação difusa, O2= Oxigênio dissolvido, NIT= Nitrato, PAR= Photosynthetically Active Radiation, FOS= Fosfato, SAL= Salinidade, SIL= Silicato, SSTv= Variação da temperatura superficial do mar.

3.4. DISCUSSÃO

Hypnea musciformis apresentou alta variação no conteúdo de MAAs (0,0029 - 3,55 mg MAA g DW⁻¹) nas diferentes praias amostradas ao longo do gradiente latitudinal que variou de 3°8' até 28°5' S, incluindo pontos nas duas principais províncias biogeográficas do oceano atlântico sul ocidental, e duas ressurgências que incidem nas regiões costeiras (Spalding et al., 2007; Castro et al., 2006). Não foram encontrados trabalhos reportando a ocorrência de MAAs para a espécie, assim como não consta no banco de dados de micosporinas feito por Sinha et al. (2007). Os resultados obtidos foram consistentes e significativos

indicando o aumento do conteúdo de MAAs em *H. musciformis* nas regiões de latitudes mais altas no sul do oceano Atlântico ocidental durante o verão.

Neste trabalho, a acumulação de MAAs em *H. musciformis* foi relacionada as praias com menores valores de temperatura, PAR, salinidade e pH, e maiores concentrações de nutrientes e oxigênio dissolvido. Fosfato e silicato foram as variáveis mais consistentes na correlação com a acumulação de MAAs, o oxigênio dissolvido também obteve índice de relação importante (Figura 3.7). Este é o primeiro relato de correlação entre o acúmulo destes compostos relacionado a estas variáveis. Embora as variáveis utilizadas sejam médias de 10 anos passados (Tyberghein et al., 2012), presumimos que os fatores influem de forma ecológica, permitindo uma macro visão de como as variáveis se comportam nos diferentes locais e sua influência.

Carreto et al. (1989;1990) demonstraram que a irradiância PAR resultou no aumento da acumulação de MAAs, enquanto a fração UVA (315-400 nm) e azul de PAR, estimulou a síntese de MAAs em dinoflagelados no ambiente natural. Resultados semelhantes foram encontrados por Singh et al. (2008) para as frações da radiação PAR, UVA e UVB. Por outro lado, Gröninger et al. (1999) demonstraram resultados onde alterações na irradiância de UVR e PAR podem não induzir a acumulação de MAAs. Neste trabalho, maiores valores de PAR foram correlacionados negativamente ao acúmulo de MAAs e a radiação ultravioleta não apresentou qualquer correlação. O IUV está associado a uma banda de radiação UV vinculada a produção de eritema (UVB curto) e não é majoritariamente absorvida pelos MAAs. As divergências nos resultados encontrados neste trabalho podem ser atribuídas a falta de qualificação na análise dos espectros de luz. Outra questão é a escassez de trabalhos que englobam o sinergismo entre diversos fatores influenciando no acúmulo destes compostos, onde a interpretação enfatiza apenas a qualidade da radiação, enquanto o meio de crescimento do organismo não é levado em consideração. Em relação à salinidade, maiores valores de MAAs foram encontrados em locais com salinidade baixa, e a correlação foi negativa. Alguns autores relacionam maiores valores de salinidade com o acúmulo de MAAs em cianobactérias (Oren, 1997), mas para

as algas vermelhas essa relação não é clara (Oren-Cimmerman et al., 2007).

O nitrato dissolvido demonstrou correlação positiva com a acumulação de MAAs, e a escassez deste nutriente na água parece ter sido um fator limitante à síntese destes compostos, uma vez que apenas as praias com valores críticos de nitrato apresentaram baixos valores de MAAs. O nitrogênio inorgânico é um componente essencial na produtividade dos ecossistemas e nos processos bioquímicos em geral (Graham et al., 2016), e a escassez no ambiente, em geral, é limitante para o crescimento e a produção de proteínas necessárias ao metabolismo dos organismos autótrofos (Rabalais et al., 2002). O nitrogênio comumente resulta no aumento de pigmentos fotossintéticos nitrogenados, como a clorofila e as ficobilinas, no conteúdo de proteínas totais e no crescimento (Dawes 1995; Vergara et al., 1995; Martins et al., 2011). Porém, maiores valores de nitrato não indicam maiores valores nestes parâmetros (Martins et al., 2011) e a concentração ótima deve ser estimada. Segundo Litchman et al. (2002), a composição de MAAs é altamente influenciada pela disponibilidade de compostos nitrogenados e sua limitação diminui significativamente a síntese de MAAs. No entanto, a relação parece não ser linear, uma vez que a concentração de MAAs não aumenta constantemente em função de maiores concentrações de nitrato (Bonomi-Barufi et al., 2011; Figueroa et al., 2008).

Em relação à temperatura superficial da água do mar, os locais com maiores temperaturas e com menores variações na unidade desta variável demonstraram alta correlação negativa com o acúmulo de MAAs em *H. musciformis*. Ismail et al. (2016) observaram a diminuição na concentração dos pigmentos fotossintéticos com o aumento da temperatura em macroalgas vermelhas. Dring et al (2013) reportaram o efeito negativo do aumento da temperatura e da salinidade sobre ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos (chl-a, Car, PE e PC) em *Hypnea cervicornis*. Com relação ao conteúdo de MAAs, Portwich & Garcia-Pichel (1999) reportaram a diminuição da concentração de MAAs em maiores temperaturas na cianobactéria *Chlorogloeopsis* PCC 6912. Em contrapartida, sobre stress térmico (32°C) espécies simbióticas de corais apresentaram maiores níveis de indução a

produção destas moléculas (Michalek-Wagner, 2001; Shick & Dunlap, 2002).

A atenuação difusa (DA) por vezes é relacionada aos valores de MAAs, pois o aumento da transparência da água, e por consequência maior penetração da radiação solar, agem como um fator de síntese (Shick & Dunlap, 2002; Karsten & Wiencke, 1999). No entanto, poucos trabalhos discutem a atenuação difusa levando em consideração maiores concentrações de clorofila e nutrientes na água, que proporcionam menores valores de atenuação difusa (Fileman et al., 2017). Do ponto de vista do aumento da concentração de nutrientes na água do mar, foi observada uma correlação positiva entre maiores valores de DA e de MAAs, atribuídas não a quantidade de radiação incidente, mas pela maior concentração de nutrientes na água.

O oxigênio possui importância nos ambientes aquáticos uma vez que atua como regulador em processos metabólicos dos organismos e comunidades. Grande parte do oxigênio dissolvido provém da atmosfera, mas também é produzido pela ação fotossintética das algas (Rand et al., 1995). Não existem relatos entre o acúmulo de MAAs relacionada aos níveis de oxigênio dissolvido no meio, no entanto, sabe-se que ambientes com maior produção primária, movimento de massas da água, como por exemplo locais de ressurgência ou regiões costeiras sob influência de rios possuem maiores teores de oxigênio dissolvido na água (Castro et al., 2006).

Valores de fosfato são importantes do ponto de vista ecológico nos ecossistemas aquáticos uma vez que a principal função do fósforo é a transferência de energia mediada pelo ATP e outros compostos de alta energia presentes na fotossíntese e na respiração (Lobban & Harrison, 1994). Carreto et al. (2011) constataram que não existem informações disponíveis que relacionem a síntese e a acumulação de MAAs sobre condições limitadas de P, e não foram encontrados trabalhos que relacionaram conteúdo de fosfato ao acúmulo de MAAs. Correlações positivas entre o aumento do fosfato no meio e o conteúdo pigmentos fotossintetizantes foram reportadas em *Hypnea musciformis* (Martins et al., 2011).

Hypnea musciformis demonstra ser uma espécie potencial

para produção de MAAs nas regiões de águas mais frias e enriquecidas por nutrientes da costa brasileira. Foi constatada uma significativa diferença no conteúdo de MAAs nos espécimes do nordeste e das regiões sudeste e sul da costa brasileira. Características abióticas dos ambientes marinhos observados podem ser simuladas em meios de cultura sob condições controladas (Castellar et al., 2015). Além disso, outros trabalhos enfatizam maiores taxas de crescimento e de acumulação de pigmentos fotossintetizantes para *H. musciformis* durante o inverno, onde os níveis de nutrientes costumam ser maiores e a temperatura da água diminui (Ismail et al., 2016) características ecológicas importantes a serem abordadas levando em consideração o acúmulo de MAAs para espécie.

3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo apresentamos o primeiro relato da ocorrência de aminoácidos do tipo micosporina em *Hypnea musciformis*, representados por 6 tipos: Paliteno, Asterina-330, Shinorina, Porfira-334, Paliteno e Micosporina-glicina. A concentração de MAAs em *H. musciformis* variou ao longo do gradiente latitudinal da costa brasileira e consideramos a síntese de MAAs nesta espécie com característica de indução por fatores externos. Shinorina e Asterina-330 oscilaram como MAA majoritários e variaram em relação aos locais de coleta. Shinorina foi principalmente influenciada pelas oscilações na temperatura da água superficial, e a maiores teores de silicato, oxigênio dissolvido e fósforo encontrados nas praias mais ao Sul do Brasil de águas mais frias. Já no caso de Asterina-330, houve forte correlação com valores de nitrato.

A combinação dos fatores fosfato, oxigênio dissolvido, atenuação difusa e silicato foi explicativa para o acúmulo de MAAs de *H. musciformis*, sendo os locais da região sudeste (Prainha e Cibratel – SP) e do sul (Penha, Itapirubá e Prainha do Farol) considerados mais propícios a obtenção de maiores teores de MAAs. Em relação ao fosfato, silicato e oxigênio dissolvido, este é o primeiro relato na literatura da correlação positiva ao conteúdo de MAAs.

Os resultados indicaram um padrão latitudinal inverso ao Equador em relação a maiores concentrações de MAAs em *H.*

musciformis. Sugerimos a coleta pontual da água do mar no local de amostragem, assim como o uso de espectroradiômetros para a medição da radiação PAR e ultravioleta no momento da coleta. Além disso, é relevante o estudo das variações no conteúdo de MAAs em *H. musciformis*, relacionadas à sazonalidade e em diferentes períodos do dia.

3.6 REFERÊNCIAS

ADAMS, N. L. & SHICK, J. M. Mycosporine-like amino acids provide protection against ultraviolet radiation in eggs of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. **Photochemistry and Photobiology**. v. 64, p. 149–58, 1996.

ADAMS, N. L. & SHICK, J. M. Mycosporine-like amino acids prevent UVB-induced abnormalities during early development of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. **Marine Biology**. v. 138, p. 267–280, 2001.

ALVES, M. G. C. F.; DORE, C. M. P. G.; CASTRO, A. J. G.; DO NASCIMENTO, M. S.; CRUZ, A. K. M.; SORIANO, E. M.; et al. Antioxidant, cytotoxic and haemolytic effects of sulphated galactans from edible red alga *Hypnea musciformis*. **Journal of Applied Phycology**. v. 24, p. 1217–1227, 2012.

AMARAL, A. C. Z. & JABLONSKI, S. Conservação da biodiversidade marinha e costeira do Brasil. **Megadiversidade**. v. 1, n. 1, p. 43-51, 2005.

BAIS, A. F.; TOURPALI, K.; KAZANTZIDIS, A.; et al. Projections of UV radiation changes in the 21st century: impact of ozone recovery and cloud effects. **Atmospheric Chemistry and Physics**. v. 11, p. 7533–7545, 2011.

BAKER, K. S.; SMITH, R. C.; GREEN, A. E. S. Middle ultraviolet radiation reaching the ocean surface. **Photochemistry and Photobiology**. v. 32, p. 367–374, 1980.

- BALSKUS, E. P. & WALSH, C. T. The genetic and molecular basis for sunscreen biosynthesis in cyanobacteria. **Science**. v. 329, p. 1653–1656, 2010.
- BANASZAK, A. T.; LESSER, M. P.; KUFFNER, I. B.; ONDRUSEK, M. Relationships between ultraviolet (UV) radiation and mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. **Bulletin of Marine Science**. v. 63, p. 617–628, 1998.
- BANASZAK, A. T. & LESSER, M. P. Effects of solar ultraviolet radiation on coral reef organisms. **Photochemical and Photobiological Sciences**. v. 8, p. 1276-1294, 2009.
- BANDANARAYAKE, W. M. Mycosporines: are they nature's sunscreens? **Natural Product Reports**. v. 15, p. 159–72, 1998.
- BARUFI, J. B.; FIGUEROA, F. L.; PLASTINO, E. M. Effects of light quality on reproduction, growth and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta: Gracilariales). **Scientia Marina**. v. 79, n. 1, p. 15-24, 2015.
- BERCHEZ, F. A. S.; PEREIRA, R. T. L.; KAMIYA, N. F. Culture of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta - Gigartinales) on artificial substrates attached to linear ropes. **Hydrobiologia**. v. 260/261, p. 415–420, 1993.
- BENGTSON, S.; SALLSTEDT, T.; BELIVANOVA, V.; WHITEHOUSE, M. Three-dimensional preservation of cellular and subcellular structures suggests 1.6 billion-year-old crown-group red algae. **PLoS Biology**. v. 15, p. 3, 2017.
- BHATIA, S.; GARG, A.; SHARMA, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A.; PUROHIT, A. P. Mycosporine and mycosporine-like amino acids: A paramount tool against ultra violet irradiation. **Pharmacognosy Reviews**. v. 5, n. 10, p. 138-146, 2011.

BHATIA, S.; SHARMA, K.; NAMDEO, A. G.; CHAUGULE, B. B.; KAVALE, M.; NANDA, S. Broad-spectrum sun-protective action of Porphyra-334 derived from *Porphyra vietnamensis*. **Pharmacognosy Research**. v. 2, p. 45–9. 2010.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. As algas do Brasil. **Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. v. 1, p. 49-60, 2010.

BISCHOF, K.; KRÄBS.; HANELT, D.; WIENCKE, C. Photosynthetic characteristics and mycosporine-like amino acids under UV radiation: a competitive advantage of *Mastocarpus stellatus* over *Chondrus crispus* at the Helgoland shoreline? **Helgoland Marine Research**. v. 54, p. 47-52, 2000.

BISCHOF, K.; HANELT, D.; WIENCKE, C. UV-radiation can affect depth- zonation of Antarctic macroalgae. **Marine Biology**. v. 131 n. 4, p. 597–605, 1998b.

BISCHOF, K.; HANELT, D.; WIENCKE, C. Acclimation of maximal quantum yield of photosynthesis in the brown alga *Alaria esculenta* under high light and UV radiation. **Plant Biology**. v. 1 n. 4, p. 435–444, 1999.

BISCHOF, K.; HANELT, D.; WIENCKE, C. Effects of ultraviolet radiation on photosynthesis and related enzyme reactions of marine macroalgae. **Planta**. v. 211, n. 4, p. 555–562, 2000.

BISCHOF, K.; GÓMEZ, I.; MOLIS, M.; HANELT, D.; KARSTEN, U.; LÜDER, U.; ROLEDA, M. Y.; ZACHER, K.; WIENCKE, C. Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**. v. 5, p. 141-166, 2006.

BÖHM, G. A.; PFLEIDERER, W.; BÖGER, P.; SCHERER, S. Structure of a novel oligosaccharide-mycosporine-amino acid ultraviolet A/B sunscreen pigment from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. **Journal of Biological Chemistry**. v. 270, p. 8536 – 8539, 1995.

BOLTON, J. J. Global seaweed diversity—patterns and anomalies. **Botanica Marina**. v. 37, p. 241–245, 1994.

BONOMI-BARUFI, J.; KORBEE, N. P.; OLIVEIRA, M. C.; FIGUEROA, F. L. Effects of N supply on the accumulation of photosynthetic pigments and photoprotectors in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta) cultured under UV radiation. **Journal of Applied Phycology**. v. 23, p. 457–466, 2011

BOULTON, A. J.; BOYERO, L.; COVICH, A. P.; DOBSON, M. K.; LAKE, P. S, PEARSON, R. G. **Are Tropical streams ecologically different from temperate streams?** Tropical Stream Ecology. Academic Press, (Aquatic Ecology Series), 2008.

BRASILEIRO, P. S.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; BAHIA, R.; REIS, R. P.; AMADO FILHO, G. M. Algas marinhas bentônicas da região de Cabo Frio e arredores: síntese do conhecimento. **Rodriguésia**. v. 60, n.1, 2009.

BRAUN, C.; REEF, R.; SIEBECK. Ultraviolet absorbing compounds provide a rapid response mechanism for UV protection in some reef fish. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B**. v. 160, 2016.

CAIRES, T. A.; COSTA, I. O.; JESUS, P. B.; MATOS, M. R. B.; PEREIRA-FILHO, G. H.; NUNES, J. M. C. Evaluation of the stocks of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta: Gigartinales) on two beaches in Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**. v. 61, p. 65–71, 2013.

CAREFOOT, T. H.; et al., Mycosporine-like amino acids: possible UV protection in eggs of the sea hare *Aplysia dactylomela*. **Marine Biology**. v. 130, n. 3, p. 389–396, 1998.

CARRETO, J. I.; CARRIGNAN, M. O.; DALEO, G.; DE MARCO, S. G. Occurrence of mycosporine-like amino acids in the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavatum*: UV photoprotective compounds? **Journal of Plankton Research**. v. 12, p. 909–921,

1990.

CARRETO, J. I. & CARRIGNAN, M. O. Mycosporine-Like Amino Acids: Relevant Secondary Metabolites. Chemical and Ecological Aspects. **Marine Drugs**. v. 9, p. 387-446, 2011.

CARROLL, A. K. & SHICK, J. M. Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Stongylocentrotus droebachiensis*). **Marine Biology**. v. 124, p. 561–569, 1996.

CARSTENS, B. C.; PELLETIRE, T. A.; REID, N. M.; SATLER, J. D. How to fail at species delimitation. **Molecular Ecology**. v. 22, p. 4369-4383, 2013.

CASTELAR, B.; REIS, R. P.; AZEREDO, F.; MATTOS, P.; BERARDINELLI, G. *Hypnea musciformis*: alternative or complement to the production of *Kappaphycus alvarezii* introduced in tropical countries? **Aquaculture Research**. v. 47, n. 11, 2016.

CASTRO, B. M.; BRANDINI, F. P.; PIRES-VANIN, A. M.; MIRANDA, L. B. Multidisciplinary oceanographic processes on the western Atlantic continental shelf between 4°N and 34°S. In: **The Sea**, vol. 14 – The global Coastal Ocean: Interdisciplinary Regional Studies and Synthesis, Chapter 8, 2006.

CHAKRABORTY, K.; JOSEPH, D.; PRAVEEN, N. K. Antioxidant activities and phenolic contents of three red seaweeds (Division, Rhodophyta) harvested from the Gulf of Mannar of Peninsular India. **Journal of Food Science and Technology**. v. 52, p. 1924–1935, 2013.

CONDE, F. R.; CHURIO, M. S.; PREVITALI, C. M. The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. v. 56, p. 139-144, 2000.

CORDEIRO-MARINO, M. Rodoficeas bentônicas marinhas do estado de Santa Catarina. **Rickia**. v. 7, p. 1-243, 1978.

COSENZA, V. A.; STORTZ, C. A.; NAVARRO, D. A. Minor polyssaccharidic constituents from red seaweed *Hypnea musciformis*. Appearance of a novel branched uronic acid. **Carbohydrate Polymers**. v. 9, p. 1-36, 2016.

CRUTZEN, P. G. Ultraviolet on the increase. **Nature**. v. 356, p. 104-105, 1992.

DAWES, C. J. The effect of nutrient and photon influence on the photosynthetic responses of red and pigmented cultivars of *Eucheuma Generation of PM publication page 521 denticulatum*. **Botanica Marina**. v. 38, p. 323-327, 1995.

DAWES C. J. & A. C. MATHIESON. **The Seaweeds of Florida**. University Press of Florida, Gainesville, 2008.

DE LA COBA, F.; AGUILERA, J.; FIGUEROA, F. L.; DE GÁLVEZ, M.V.; HERRERA, E. Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. **Journal of Applied Phycology**. v. 21, p. 161-169, 2009.

DING, L.; MA, Y.; HUANG, B.; CHEN, S. Effects of seawater salinity and temperature on growth and pigment contents in *Hypnea cervicornis* J. Agardh (Gigartinales, Rhodophyta). **Biomedicine Research International**. p. 10, 2013.

DUNLAP, W. C. & SHICK, J. M. UV radiation absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: a biochemical and environmental perspective. **Journal of Phycology**. v. 34, p. 418-430, 1998.

DUFFY, J. E. & HAY, M. The ecology and evolution of marine consumers-prey interactions. In **Marine community ecology**, ed. Bertness, M. D.; Gaines, S. D. & Hay, M. E. p. 131-59. Sunderland, MA: Sinauer, 2001.

DUNLAP, W. C. & CHALKER, B. E. Identification and quantification of near-UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. **Coral Reefs**. v. 5, p. 155-159, 1986.

DUNLAP, W. C. & SHICK, M. J. Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: a biochemical and environmental perspective. **Journal of Phycology**. v. 34, p. 418- 430, 1998.

DUNLAP, W. C.; WILLIAMS, D. M. C. B.; CHALKER, B. E.; BANASZAK, A. T. Biochemical photoadaptations in vision: UV-absorbing pigments in fish eye tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 93, p. 601-7, 1989.

FACCINI, A. L. & BERCHEZ, F. Management of natural beds and standing stock evaluation of *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta) in southeastern Brazil. **Journal of Applied Phycology**. v. 12, p. 101-103, 2000.

FAVERI, C.; SCHMIDT, E. C.; SIMIONI, C.; MARTINS, C. D. L.; BONOMI-BARUFI, J.; HORTA, P. A.; BOUZON, Z. L. Effects of eutrophic seawater and temperature on the physiology and morphology of *Hypnea musciformis* J. V. Lamouroux (Gigartinales, Rhodophyta). **Ecotoxicology**. v. 5, p. 1040-52, 2015.

FAVRE-BONVIN, J.; ARPIN, N.; BREVARD, C. Structure de la mycosporine (P-310). **Canadian Journal of Chemistry**. v. 54, p. 1105-1113, 1976.

FAVRE-BONVIN, J.; FAVRE-BONVIN, J.; BERNILLON, J.; SALIN, N.; ARPIN, N. Biosynthesis of mycosporines: Mycosporine glutaminol in *Trichothecium roseum*. **Phytochemistry**. v. 26, p. 2509-2514, 1987.

FLEISCHMANN, E. M. The measurement and penetration of ultraviolet radiation into tropical marine water. **Limnology and Oceanography**. v. 34, p. 1623-1 629, 1989.

FIGUEROA, F. L.; SALLES, S.; AGUILERA, J.; JIMÉNEZ, C.; MERCADO, J.; VIÑEGLA, B.; FLORES-MOYA, A.; ALTAMIRANO, M. Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta*. **Marine Ecology Progress Series**. v, 151, p. 81-90, 1997.

FIGUEROA, F. L.; BUENO, A.; KORBEE, N.; SANTOS, R.; MATA, L.; SCHUENHOFF, A. Accumulation of mycosporine-like amino acids in *Asparagopsis armata* grown in tanks with fishpond effluents of Gilthead Sea Bream, *Sparus aurata*. **Journal of World Aquaculture Society**. v. 39, p. 692– 699, 2008.

FRANKLIN, L. A. & FORSTER, R. M. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. **European Journal of Phycology**. v. 32, n. 3, p. 207–232, 1997.

FU, F.; SUI, Z. H.; ZHOU, W.; WANG, J. G.; CHANG, L. P.; CI, S. F. UV-irradiation mutation of tetraspores of *Gracilariopsis lemaneiformis* and screening of thermotolerant strains. **Journal of Applied Phycology** . v. 26, p. 647-656, 2013.

GASTÓN, K. J. Global patterns in biodiversity. **Nature**. v. 405, p. 220-227, 2000.

GERALDINO, P. J. L.; RIOSMENA-RODRIGUEZ, R.; LIAO, L. M.; BOO, S. M. Phylogenetic relationships within the genus *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta), with a description of *Hypnea caespitose* sp. nov. **Journal of Phycology**. v. 46, p. 336–345, 2010.

GLEASON, D. F. Differential effects of ultraviolet radiation on green and brown morphs of the Caribbean coral *Porites astreoides*. **Limnology and Oceanography**. v. 38, p. 1452-1463, 1993.

GLOMBITZA, K. W. **Marine Algae in Pharmaceutical Science**; Hoppe, HA, Levring, T, Eds.; Walter de Gruyter: New York, NY, USA, v. 1, pp. 303–342, 1979.

GRAHAM, L. E.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. W.; COOK, M. E. **Algae**. 3ed. LJLM Press, LLC, pp. 595, 2016.

GRÖNINGER, A.; HALLIER, C.; HÄDER, D. P. Influence of UV radiation and visible light on *Porphyra umbilicalis*: Photoinhibition and MAA concentration. **Journal of Applied Phycology**. v. 11, p. 437-445, 1999.

GRAHAM, L. E.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. W.; COOK, M. E. **Algae**. 3ed. **LJLM Press, LLC**, pp. 595, 2016.

GRÖNIGER, A.; SINHA, R. P.; KLISCH, M.; HÄDER, D. P. Photoprotective compounds in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae – a database. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B**. v. 5, p. 115–122, 2000.

GUERRA, H. T. O litoral Atlântico. **Paisagens do Brasil**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Rio de Janeiro, 456 pp. 1962.

GUIST, G. G.; DAWES, C. J.; CASTLE, J. R. Mariculture of the red seaweed, *Hypnea musciformis*. **Aquaculture**. v. 28, p. 375-384, 1982.

GUIRY, M. D. & GUIRY, G. M. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>. Consultado em 08 de Março de 2017.

HÄDER, D. P. & FIGUEROA, F. L. Photoecophysiology of marine macroalgae. **Photochemistry and Photobiology**. v. 66, p. 1-14. 1997.

HÄDER, D-P.; KUMAR, H. D.; SMITH, R. C.; WORREST, R. C. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. **Photochemistry and Photobiology Sciences**. v. 6, p. 267–285, 2007.

HAWKINS, B. A. R.; FIELD, H. V.; CORNELL, D. J.; CURRIE, J. F.;

GUEGAN, D. M.; KAUFMAN, J. T.; KERR, G. G.; MITTELBAACH, T.; OBERDORFF, E. M.; O'BRIEN, E. E.; PORTER, J. R. G. Energy, water, and broad-scale geographic patterns of species richness. **Ecology**. v. 84, p. 3105–3117, 2003.

HEGGLIN, M. I. & SHEPERD, T. Large climate-induced changes in ultraviolet index an Stratosphere to troposphere ozone flux. **Nature Geosciences**. v. 2, p. 687-691, 2009.

HELBLING, E. W.; BALLARE, C. L.; VILLAFANE, V. E. Impacts of ultraviolet radiation on aquatic and terrestrial ecosystems. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. v. 62, p. 1–2, 2001.

HELBLING, E. W.; BARBIERI, E. S.; SINHA, R. J.; VILLAFANE, V. E.; HÄDER, D. -P. Dynamics of potentially protective compounds in Rhodophyta species from Patagonia (Argentina) exposed to solar radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B**. v. 75, p. 63–71, 2004.

HOLZINGER, A.; LÜTZ, C.; KARSTEN, U.; WIENCKE, C. The effect of ultraviolet radiation on ultrastructure and photosynthesis in the red macroalgae *Palmaria palmata* and *Odonthalia dentata* from Arctic waters. **Plant Biology**. v. 6, n. 5, p. 568–577, 2004.

HORTA, P. A.; AMANCIO, E.; COIMBA, C.; OLIVEIRA, E. C. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. **Hoehnea**. v. 28, p. 243-265, 2001.

HÖYER, K.; KARSTEN, U.; WIENCKE, C. Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. **Marine Biology**. v. 141, p. 619–627, 2002.

HÖYER, K.; KARSTEN, U.; SAWALL, T. Photoprotective substances in Antarctic macroalgae and their variation with respect to depth distribution, different tissues and developmental stages. **Marine Ecology Progress Series**. v. 211, p. 117-129, 2001.

ISMAIL, M. M.; OSMAN, M. E. H. Seasonal fluctuation of

photosynthetic pigments of most common red seaweeds species collected from Abu Qir, Alexandria, Egypt. **Revista de Biologia Marina y Oceanografia**. v. 51, n. 3, p. 515-525, 2016.

JESUS, P. B.; SILVA, M. S.; LYRA, G. M.; NUNES, J. M. C.; SCHNADELBACH, A. S. Extension of the distribution range of *Hypnea stellulifera* (Cystocloniaceae, Rhodophyta) to the South Atlantic: Morphological and molecular evidence. **Aquatic Botanic**. v. 123, p. 26-36, 2015.

JIANG, H.; GAO, K.; HELBLING, E. W. UV-absorbing compounds in *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) with special references to effects of desiccation. **Journal of Applied Phycology**. v. 20, p. 387-395, 2008.

JOKIEL, P. L. Solar radiation and coral reef epifauna. **Science**. v. 207, p. 1069-71, 1980.

JOLY, A. B. **Gêneros de algas marinhas da costa atlântica latino-americana**. São Paulo: Ed. da Universidade. 461 p, 1967.

KAIN, J. M. & DESTOMBE, C. A. Review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. **Journal of Applied Phycology**. v. 7, p. 69-281, 1995.

KARENTZ, D.; MC EUEN, F. S.; LAND, M. V.; DUNLAP, W. C. Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: Potential protection from ultraviolet exposure. **Marine Biology**. v. 108, p. 157-166, 1991.

KARSTEN, U.; DUMMERMUTH, A.; HOYER, K.; WIENCKE, C. Interactive effects of ultraviolet radiation and salinity on the ecophysiology of two Arctic red algae from shallow waters. **Polar Biology**. v. 26, p. 249-258, 2003.

KARSTEN, U. & WIENCKE, C. Factors controlling the formation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in the marine red alga *Palmaria palmata* from Spitsbergen (Norway). **Journal of Plant**

Physiology. v. 155, p. 407–15, 1999.

KARSTEN, U.; FRANKLIN, L. A.; LÜNING, K.; WIENCKE, C. Natural ultraviolet and photosynthetic active radiation induce formation of mycosporine-like amino acids in the marine macroalga *Chondrus crispus* (Rhodophyta). **Planta.** v. 205, p. 257–262, 1998a.

KARSTEN, U. Effects of salinity and ultraviolet radiation on the concentration of mycosporine-like amino acids (MAAs) in various isolates of the benthic cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*. **Phycological Research.** v. 50, p. 129–134, 2002.

KASPARI, M.; WARD, P. S.; YUAN, M. Energy gradients and the geographic distribution of local ant diversity. **Oecologia.** v. 140, p. 407–413, 2004.

KORBEE-PEINADO, N.; ABDALA DÍAZ, R. T.; FIGUEROA, F. L.; HELBLING, E. W. Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina. **Journal of Phycology,** 2004.

KORBEE, N.; HUOVINEN, P.; FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J.; KARSTEN, U. Availability of ammonium influences photosynthesis and the accumulation of mycosporine-like amino acids in two *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta). **Marine Biology.** v. 146, p. 645–654, 2005.

KORBEE, N.; FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina (MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. **Revista Chilena de Historia Natural.** v. 79, p. 119-132, 2006.

KORBEE PEINADO, N.; ABDALA DÍAZ, R. T.; FIGUEROA, F. L.; HELBLING, E. W. Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina. **Journal of Phycology.** v. 40, p. 248–259, 2004.

KERR, J. B. & MCELROY, C. T. Evidence for large upward trends of ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion. **Science**. v. 262, p. 1032-4, 1993.

KEKKONEN, M. & HEBERT, P. D. DNA barcode based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. **Molecular Ecology Resource**. v. 14, n. 4, p. 706-715, 2014.

KERSWELL, A. P. Global biodiversity patterns of benthic marina algae. **Ecology**. v. 87, n. 10, p. 2479-2488, 2006.

KORBEE, N.; FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina(MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. **Revista Chilena de Historia Natural**. v. 79, p. 119-132, 2006.

KUMARI, S.; RASTOGI, R. P.; SINGH, K. L.; SINGH, S. P.; SINHA, R. P. DNA damage detections strategies. **Excli Journal**. v. 7, p. 44-62, 2008.

LAMOUREUX, D. E. S. Essaisur les genres de la famille des Thalassiophytes non articulées. **Annales du Muséum D'Histoire Naturelle**. p. 21-290, 1813.

LLEWELLYN, C. A.; WHITE, D. A.; MARTINEZ-VINCENTE, V.; TARRAN, G.; SMYTH, T. J. Distribution of Mycosporine-Like Amino Acids Along a Surface Water Meridional Transect of the Atlantic. **Microbial Ecology**. v. 64, p. 320-333, 2012.

LEE, R. E. Phycology. **Cambridge University Press**, New York, 4a ed. 547p. 2008.

LEE, T. M. & SHIU, C. T. Implications of mycosporine-like amino acid and antioxidant defenses in UV-B radiation tolerance for the algae species *Pterocladia capillacea* and *Gelidium amansii*. **Marine Environmental Research**. v. 67, p. 8-16, 2009.

LEGENDTRE, P. & LEGENDRE, L. **Numerical ecology**. 2nd English

edition. Elsevier, Amsterdam, 1998.

LITCHMAN, E.; NEALE, P.J.; BANASZAK, A.T. Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: Photoprotection and repair. **Limnology and Oceanography**. v. 47, p. 86–94, 2002.

LITTLER, M. M.; LITTLER, D. S.; BLAIR, S. M.; NORIS, J. N. Deepest known plant life discovered on an uncharted seamount. **Science**. New York. 227p. 1985.

LITTLER, D. S. & LITTLER, M. M. **Caribbean reef plants**. Washington: Offshore Graphics. 542p, 2000.

LIU, Z.; HÄDER, D. P.; SOMMARUGA, R. Occurrence of mycosporine-like amino acids (MAAs) in the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Plankton Research**. v. 26, p. 963–966, 2004.

LLEWELLYN C. A. & HARBOUR, D. S. A temporal study of mycosporine-like amino acids in Surface water phytoplankton from the English channel and correlation with solar irradiation. **Journal of Marine Biological Association**. v. 83, p. 1-9, 2003.

LOBBAN, C. S.; HARRISON, P. Seaweed ecology and physiology. **Cambridge University Press**, Cambridge.366 pp. 1994.

LOBBAN, C. S. & HARRISON, P. J. Seaweed ecology and physiology. New York: **Cambridge University Press**, 1994.

LÜNING, K. **Meeresbotanik: Verbreitung, Ökophysiologie und Nutzung der marinen Makroalgen**. Thieme Verlag, Stuttgart, 1985.

MANNEY, G. L.; SANTEE, M. L.; REX, M; et al. Unprecedented Arctic ozone loss in 2011. **Nature**. v. 478, p. 469–475, 2011.

McKENZIE, R. L.; AUCAMP, P. J.; BAIS, A. F.; ILYAS, M.; MADRONICH, S. Ozone depletion and climate change: impacts on UV radiation. **Photochemical & Photobiological Sciences**. v. 10, p. 182, 2011.

MENGE, B. A.; DALEY, P. A.; WHELLER, E.; DAHLHOFF, E.; SANDFORD, E.; STRUB, P. T. Benthic-pelagic links and rocky intertidal communities: Bottom-up effects on top-down control? **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 94, p. 14530-35, 1997.

MIDDLETON, E. M. & TERAMURA, A. H. The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. **Plant Physiology**. v. 103, p. 741-752.

MITTLER, R. & TEL-OR, E. Oxidative stress responses in the unicellular cyanobacterium *Synechococcus* PCC7942. **Free Radical Research Communications**. v. 12, p. 845-850, 1991.

MONROE, K. & POORE, A. G. B. Light quantity and quality induce shade-avoiding plasticity in a marine macroalgae. **Journal of Evolutionary Biology**. v. 18, n. 2, p. 426 – 435, 2005.

MOREAU, S.; VIDUSSI, F.; FERREYRA, G.; MOSTAJIR, B. Ecological impacts of ultraviolet-B radiation on marine ecosystems. In: **Stressors in the Marine Environment**, ed, Martin, S. & Nia, M. W - Oxford University Press, Chapter15, 2015.

MACKERNESS, S. A-H.; JORDAN, B. R.; THOMAS, B. Reactive oxygen species in the regulation of photosynthetic genes by ultraviolet-B radiation (UV-B: 280–320 nm) in green and etiolated buds of pea (*Pisum sativum* L.). **Journal of Photochemistry and Photobiology**. v. 48 n. 2–3, p. 180–188, 1999.

MISONOU, T.; SAITOH, J.; OSHIBA, S.; TOKITOMO, Y.; MAEGAWA, M.; INOUE, Y.; HORI, H.; SAKURAI, T. UV-absorbing substance in the red alga *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) block thymine photodimer production. **Marine Biotechnology**. v. 5, p. 194-200, 2003.

MOREAU, S.; VIDUSSI, F.; FERREYRA, G.; MOSTAJIR, B. **Ecological impacts of ultravioleta-B radiation on marine ecosystems.**

Stressor in the marine environment. Oxford University press.

Chapter 15. pp. 261-281, 2016

MAHARANA, D.; DAS, P. B.; VERLECAR, X. N.; PISE, N. M.; GAUNS, M. Oxidative stress tolerance in intertidal red seaweeds *Hypnea musciformis* (Wulfen) in relation to environmental components.

Environmental Science Pollution Research. v. 23, n. 22, 18741-9, 2015.

MARTINS, A. P.; JUNIOR, O. P.; COLEPICOLO, P.; YOKOYA, N. S.

Effects of nitrate and phosphate availabilities on growth, photosynthesis and pigment and protein contents in colour strains of *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). **Brazilian Journal of Pharmaceutical.** v. 21, n. 2, p. 340-348, 2011.

MASUDA, M.; YAMAGISHI, Y.; CHIANG, Y.-M.; LEWMANOMONT, K.; XIA, B. M. Overview of *Hypnea* (Rhodophyta, Hypneaceae). In

Abbott, I. A. [Ed.] **Taxonomy of economic seaweeds.** Vol. 6.

California Sea Grant College, University of California, La Jolla, California, pp. 127-133, 1997.

MICHALEK-WAGNER, K. Seasonal and sex-specific variations in levels of photo-protecting mycosporine-like amino acids. **Marine Biology.** v. 139, p. 651-660, 2001.

NAGANO, C. S.; DEBRAY, H.; NASCIMENTO, K. S.; PINTO, V. P. T.; CAVADA, B. S.; SAKER-SAMPAIO, S.; FARIAS, W. R. L.; SAMPAIO, A. H.; CALVETE, J. J. HCA and HML isolated from the red marine algae *Hypnea cervicornis* and *Hypnea musciformis* define a novel lectin family. **Protein Science.** v. 14, p. 2167-2176, 2005.

NAKAMURA, H.; KOBAYASHI, J.; HIRATA, Y. Separation of mycosporine-like amino acids in marine organisms using reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of**

Chromatography. v. 250, p. 113-118, 1982..

NAUER, F.; GUIMARÃES, N. R.; CASSANO, V.; YOKOYA, N. S.; OLIVEIRA, M. C. *Hypnea* species (Gigartinales, Rhodophyta) from the southeastern coast of Brazil based on molecular studies complemented with morphological analyses, including descriptions of *Hypnea edeniana* sp. nov. and *H. flava* sp. nov. **European Journal of Phycology.** n. 49, p. 550–575, 2014.

NAUER, F.; CASSANO, V.; OLIVEIRA, M. C. Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology.** v. 27, p. 2405–2417, 2015.

NAVARRO, N. P.; MANSILLA, A.; FIGUEROA, F. L.; KORBEE, N.; JOFRE, J.; PLASTINO, E. Short-term effects of solar UV radiation and NO₃-supply on the accumulation of mycosporine like amino acids in *Pyropia columbina* (Bangiales, Rhodophyta) under spring ozone depletion in the sub-Antarctic region, Chile. **Botanica Marina.** v. 57, n. 1, p. 9-20, 2014.

NUNES, J. M. C.; MOURA, C. W. N.; CREED, M.; FUJII, M. T.; CASSANO, V.; BARROS-BARRETO, M. B. B.; PEREIRA, S. M. B.; KHADER, S.; NECCHI JR, O.; OLIVEIRA, M. C.; HENRIQUES, M. C.; OLIVEIRA-CARVALHO, M. F.; GUIMARÃES, S. M. P. B. Rhodophyceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB100399>; acesso em 01 Jun. 2016.

OKSANEN, J. **Multivariate Analysis of Ecological Communities in R: vegan tutorial** (2015). Acesso em: 05. Jan. 2017. Disponível em: <http://www.cc.oulu.fi/jarioksa/opetus/metodi/vegantutor.pdf>

OREN, A. Mycosporine-like amino acids as osmotic solutes in a community of halophilic cyanobacteria. **Geomicrobiology Journal.** v. 14, p. 231–240, 1997.

OREN, A. & GUNDE-CIMERMAN, N. Mycosporines and mycosporine-like amino acids: UV protectants or multipurpose secondary metabolites? **FEMS. Microbiology Letters**. v. 269, p. 1-10, 2007.

POPPE, F.; SCHMIDT, R. A. M.; HANELT, D.; WIENCKE, C. Effects of UV radiation on the ultrastructure of several red algae. **Phycological Research**. v. 51, n. 1, p. 11-19, 2003.

PORTWICH, A. & GARCIA-PICHEL, F. Ultraviolet and osmotic stresses induce and regulate the synthesis of mycosporines in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. **Archives of Microbiology**. v. 172, p. 187-192, 1999.

PIANKA, E. R. Latitudinal gradients in species diversity: A review of concepts. **American Naturalist**. v. 100, p. 33-46, 1996.

RAJASULOCHANA, P. & PREETHY, V. Glimpses On Cosmetic Applications Using Marine Red Algae. **International Journal Of Pharmacy and Technology**. v. 7, n. 2, 2015

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment; Rand, G. M., ed.; 2nd ed., **Taylor & Francis: Washington**, 1995, cap. 1.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7^a. Ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 830p. 2007.

REBALAIS, N. N. Nitrogen in aquatic ecosystems. **Ambio**. v. 31, n. 2, p. 102-12, 2002.

REIS, R. P.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; SANTOS, C. P. Spatial and temporal variation of *Hypnea musciformis* carrageenan (Rhodophyta – Gigartinales) from natural beds in Rio de Janeiro State, Brazil. **Journal of Applied Phycology**. v. 20, p. 1-8, 2008.

REX, M.; SALAWITCH, R. J.; VON DER GATHEN, P.; et al. Arctic ozone loss and climate change. **Geophysical Research Letters**. v. 31, p.

4116, 2004.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. 6ª. ed. Ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 546p. 2010.

ROHDE, K. Latitudinal gradients in species diversity: the search for the primary cause. **Oikos**. v. 65, p. 514-527, 1992.

SANTELICES, B.; BOLTON, J. J.; MENESES, I. Marine Algal Communities. In: **Marine Macroecology**, Witman, J. D & Roy, K, ed. vol. 2 - University of Chicago Press: Chicago and London, chapter 6, 424p. 2009.

SANTELICES, B. & MENESES, I. A. Reassessment of the phylogeographic characterization of temperate Pacific South America. **Revista Chilena de Historia Natural**. v. 73, p. 605-14, 2000.

SCHENKMAN, R. P. F. *Hypnea musciformis* (Rhodophyta): ecological influence on growth. **Journal of Phycology**. v. 25, p. 192–196, 1989.

SINHA, R. P.; SINGH, S. P.; HÄDER, D.-P. Database on mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi, cyanobacteria, macroalgae, phytoplankton and animals. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B**. v. 89, p. 29–35, 2007.

SHICK, J. M.; LESSER, M. P.; DUNLAP, W. C.; STOCHAJ, W. R.; CHALKER, B. E.; WU WON, J. Depth-dependent responses to solar ultraviolet radiation and oxidative stress in the zooxanthellate coral *Acropora microphthalma*. **Marine Biology**. v. 122, p. 41–51, 1995.

SHICK, J. M.; LESSER, M. P.; STOCHAJ, W. R. Ultraviolet radiation and photooxidative stress in zooxanthellate Anthozoa: the sea anemone *Phyllo-discus semoni* and the octocoral *Clavularia* sp. **Symbiosis**. v. 10, p. 145–73, 1991.

SHICK, J. M.; ROMAINE-LIOUD, S.; FERRIER-PAGÈS, C.; GATTUSO, J. P. Ultraviolet-B radiation stimulates shikimate pathway-dependent

accumulation of mycosporine-like amino acids in the coral *Stylophora pistillata* despite decreases in its population of symbiotic dinoflagellates. **Limnology Oceanography**. v. 44, p. 1667–1682, 1999.

SHICK, J. M. & DUNLAP, W. C. Mycosporine-like amino acids and related gadusols: biosynthesis, accumulation, and UV- protective functions in aquatic organisms. **Annual Review of Plant Physiology**. v. 64, p. 223–262, 2002.

SHICK, J. M. The continuity and intensity of ultraviolet irradiation affect the kinetics of biosynthesis, accumulation, and conversion of mycosporine-like amino acids (MAAs) in the coral *Stylophora pistillata*. **Limnology and Oceanography**. v. 49, p. 442–458, 2004.

SHIMODAIRA, H. Approximately unbiased tests of regions using multistep-multiscale bootstrap resampling. **Annals of Statistics**. v. 32, p. 2616–2641, 2004.

SINGH S. P.; KLISCH, M.; SINHA, R. P.; HÄDER, D. P. Genome mining of mycosporine-like amino acid (MAA) synthesizing and non-synthesizing cyanobacteria: A bioinformatics study. **Genomics**. v. 95, p. 120-128, 2008.

SINHA, R. P.; KUMARI, S.; RASTOGI, R. P. Impacts of ultraviolet-B radiation on cyanobacteria: photoprotection and repair. **Journal of Science Research**. v. 52, p. 125-142, 2008.

SINHA, P. R.; SHAIENDRA, P. S.; HADER, P. D. Database on mycosporine and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi, cyanobacteria, macroalgae, phytoplankton and animals. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B**. v. 89, p. 29-35, 2007.

SINHA, R. P. & HÄDER, D-P. Photobiology and ecophysiology of rice field cyanobacteria. **Photochemistry and Photobiology**. v. 64, p. 887-896, 1996.

SINHA, R. P.; SINGH, N.; KUMAR, A.; KUMAR, H. D.; HÄDER, D-P. Impacts of ultraviolet-B irradiation on nitrogen-fixing cyanobacteria

of rice paddy fields. **Journal of Plant Physiology**. v. 150, p. 188–193, 1997.

SUZUKI, R. & SHIMODAIRA, H. Pvclost: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. **Bioinformatics**. v. 22, p. 1540–1542, 2006.

SOMMARUGA, R.; WHITEHEAD, K.; SHICK, J. M.; LOBBAN, C. S. Mycosporine-like amino acids in the zooxanthella-ciliate symbiosis *Maristentor dinoferus*. **Protist**. v. 157, p. 185–191, 2006.

SPALDING, M. D.; et al. Marine ecoregions of the world: A bioregionalization of coastal and shelf areas. **BioScience**. v. 57, n. 7, 2007.

STRAMMA, L. & ENGLAND. On the water masses and mean circulation of the South Atlantic Ocean. **Journal of Geophysical Research**. v. 104, n. 9, p. 20863-20883, 1999.

TANAKA, T. The genus *Hypnea* from Japan. **Scientific Papers of the Institute of Algological Research**, Faculty of Science Hokkaido University, v. 2, p. 227–250, 1941.

TALARICO, L. & MARANZANA, G. Light and adaptive responses in red macroalgae: an overview. **Journal of Photochemical and Photobiology, B**. v. 56, p. 1-11, 2000.

TAIRA, H.; AOKI, S.; YAMANOHA, Y.; TAGUCHI, S. Daily variation in cellular content of UV-absorbing compounds mycosporine-like amino acids in the marine dinoflagellate *Scrippsiella sweeneyae*. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B**. v. 75, p. 145–155, 2004.

TAKANO, S.; UEMURA, D.; HIRATA, Y. Isolation and structure of a 334 nm UV absorbing substance, porphyra-334 from the red algae *Porphyra tenera* Kjellman. **Chemistry Letters**. v. 26, p. 419–420, 1979.

TAKANO, S.; UEMURA, D.; HIRATA, Y. Isolation and structure of two new amino acids, palythanol and palythene, from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. **Tetrahedron Letters**. v. 49, p. 4909–4912, 1978.

TSUJINO, I.; SAITO, T. Studies on the compounds specific for each group of marine algae. I. Presence of characteristic ultraviolet absorbing material in Rhodophyceae. **Bulletins of Fisheries Hokkaido University**. v. 7, p. 49–57, 1961.

TSUJINO, I.; YABE, K.; SEKIKAWA, I. Isolation and structure of a new amino acid, shinorine from the red alga *Chondrus yendoii* Yamada et Mikami. **Botanica Marina**. v. 23, p. 65–68, 1980.

TYBERGHEIN, L.; VERBRUGGEN, H.; PAULY, K.; CLERCK, O. Bio-ORACLE: A global environmental dataset for marine species distribution modelling. **Global Ecology and Biogeography**. v. 21, n. 2, p. 272–281, 2012.

VERGARA, J. J.; BIRD, K. T.; NIELL, F. X. Nitrogen assimilation following NH_4^+ pulses in the red alga *Gracilariopsis lemaneiformis*: effect on C metabolism. **Marine Ecology Progress Series**. v. 122, p. 253–263, 1995.

VINCENT, W. F. & ROY, S. Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection, and recovery. **Environmental Reviews**. v. 1, n. 1, p. 12, 1993.

ZAMZOW, J. P. Ultraviolet-absorbing compounds in the mucus of shallow-dwelling tropical reef fishes correlate with environmental water clarity. **Marine Ecological Progress Series**. v. 343, p. 263–271, 2007.

ZAMZOW, J. P. Effects of diet, ultraviolet exposure, and gender on the ultraviolet absorbance of fish mucus and ocular structures. **Marine Biology**. v. 144, n. 6, p. 1057–1064, 2004.

WÄNGBERG, S.; ANDREASSON, K. I. M.; GARDE, K.; GUSTAVSON, K.;

HENRIKSEN, P.; REINTHALER, T. Inhibition of primary production by UV-B radiation in an arctic bay – model calculations. **Aquatic Science**. v. 68, p. 117–128, 2006.

WIENCKE, C.; GÓMEZ, I.; PAKKER, H.; FLORES-MOYA, A.; ALTAMIRANO, M.; HANELT, D.; BISCHOF, K.; FIGUEROA, F. L. Impact of UV-radiation on viability, photosynthetic characteristics and DNA of brown algal zoospores: implications for depth zonation. **Marine Ecology Progress Series**. v. 197, p. 217–229, 2000.

WILD, M.; et al. From dimming to brightening: decadal changes in solar radiation at earth's surface. **Science**. v. 308, p. 847–850, 2005.

WITMAN, J. D. & DAYTON, P. K. Rocky subtidal communities. In: **Marine community ecology**, ed. M. D. Bertness, S. D. Gaines, and M. E. Hay, 339-93. Sunderland, MA: Sinauer, 2001.

WILLIG, M. R.; KAUFMAN, D. M.; STEVENS, R. D. Latitudinal gradients of biodiversity: Pattern, process, scale and synthesis. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 34, p. 273-309, 2003.

YOKOYA, N. S.; NECCHI, O.; MARTINS, A. P.; GONZALEZ, S. F.; PLASTINO, E. M. Growth responses and photosynthetic characteristics of wild and phycoerythrin-deficient strains of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**. v. 19, p. 197, 2007.

YOTSUYAMASHITA, M; HADDOCK, RL; YASUMOTO, T. POLYCAVERNOSIDE A: A novel glycosidic macrolide from the red alga *Polycavernosa tsudai* (*Gracilaria edulis*). **Journal of American Chemistry Society**. v. 115, p. 1147–1148, 1993.

