

MAEVI OTTONELLI

**FLORAÇÕES DE DIATOMÁCEAS EPIBÊNTICAS
ASSOCIADAS A BRIOZOÁRIOS NA ENSEADA DE CAMBORIÚ
- SC: CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA BIOMASSA,
ECOFISIOLOGIA DAS MICROALGAS ENVOLVIDAS E
HIPÓTESES SOBRE AS CAUSAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rubi Rörig

Florianópolis, 2014

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

Ottonelli, Maevi
FLORAÇÕES DE DIATOMÁCEAS EPIBÊNTICAS ASSOCIADAS A
BRIOZOÁRIOS NA ENSEADA DE CAMBORIÚ - SC : : CARACTERÍSTICAS
QUÍMICAS DA BIOMASSA, ECOPSILOGIA DAS MICROALGAS
ENVOLVIDAS E HIPÓTESES SOBRE AS CAUSAS. / Maevi Ottonelli ;
orientador, Leonardo Rubi Rörig - Florianópolis, SC, 2014.
85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Vegetal.

Inclui referências

1. Biologia Vegetal. 2. Oceanografia Biológica. 3.
Florações de Diatomáceas. 4. Florações de Briozoários. 5.
Biomassa. I. Rörig, Leonardo Rubi. II. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biologia
Vegetal. III. Título.

Ficha de aprovação

Este trabalho é dedicado aos meus filhos
Iago Ottonelli Giacomello e Bruno
Ottonelli Copatti, são eles minha família,
meu apoio, e por eles tudo sou!

AGRADECIMENTOS

Pelos muitos momentos de apoio que recebi ao longo do período em que realizava este trabalho que foi-me um grande desafio.

A esse Programa pela estrutura cedida e por proporcionar meu crescimento profissional.

Ao Professor Dr. Leonardo Rorig pela amizade e no seu desempenho como orientador.

Ao Professor Prof. Dr. Paulo Abreu (FURG), pela disponibilidade de realizar uma de nossas metodologias em seu Laboratório.

À Professora Dra. Roselane Silva, pelas informações valiosas e pela amizade acrescentada.

Ao Prof. Dr. Paulo Antunes Horta Jr pela disponibilidade de realização dos mergulhos uma parte importante da metodologia de nosso trabalho.

Ao Fernando Luiz Diehl (AQUAPLAN), por ceder seu espaço, equipamentos, pessoal qualificado, pela troca de informações, pelo seu grande apoio ao nosso trabalho.

A Dra. Maria Tereza Rojo Cabral (UFSC), pelo seu interesse disponibilidade, atenção e experimentos realizados em seu laboratório;

À UNIVALI, nos recebendo após as coletas para preparação, armazenamento de amostras.

A Patrícia Zimmermann da Secretaria do Meio Ambiente de Balneário Camboriú pelo apoio e pelo empenho em relação as nossas necessidades sempre quando solicitado.

À Dra. Fernanda Ramlov (CCA-UFSC), pelo apoio, atenção e disponibilidade em me ajudar em diversas situações.

Ao CNPQ por fomentar a pesquisa desse projeto.

A CAPES pela bolsa concedida.

A Coneville pelos dados cedidos, pela seriedade, pela disponibilidade em nos repassar os dados de coleta diariamente em planilhas mensais.

A Marina Tedesco por ceder lancha motorizada para uma de nossas coletas.

A Prefeitura de Balneário Camboriú. SC, por ceder sua lancha e pessoal qualificado para dirigi-la em uma de nossas coletas.

Ao grupo do LAFIC-UFSC, em especial ao Leandro Ambrózio, Gabriela Itokazu (Gabi), João Vitor Heberle Lins, Fábio Neves e aos demais não menos importantes, pela disponibilidade em me ajudar em minhas coletas, pela amizade e parceria

Ao colega e grande amigo Pablo Gressler sempre disposto a me ajudar na busca desta conquista, agradecida sempre serei.

Ao Colega César Augusto Stramosk, pelas coletas realizadas e a mim enviadas.

A todos os colegas da primeira turma conhecidos no curso, a Amizade e o Companheirismo ficarão para sempre em minha memória.

Aos amigos que me apoiaram nessa trajetória.

Ao João Clóvis Copatti Junior, pelo apoio durante muitos momentos.

A minha família que mesmo de longe sempre me apoiou. É muita distância, é muita saudade.

Ao meu filho Iago Ottonelli Giacomello, que me ajudou muito nos afazeres da casa, ajudando a também dar atenção ao seu irmão mais novo, sendo o verdadeiro homem da casa e ao meu filho Bruno Ottonelli Copatti, que soube entender o porquê da minha ausência em alguns momentos, em reuniões da escola entre outros, e além de tudo sempre me confortar com palavras tão belas apesar de seus nove anos. Todos meus esforços são por vocês.

Ao meu namorado Javier por me ajudar em tarefas da casa para que eu pudesse escrever e principalmente por me apoiar e me ouvir em momentos difíceis.

A todos minha gratidão!!!

"O bambu é flexível, apesar de forte; ele reverencia o vento que o toca soprando, ele se dobra à vida mostrando-nos que quanto menos um ser se opuser à realidade da vida, mais resistente se tornará para viver em plenitude. A retidão sem igual do bambu, a perfeição do seu projetar-se para o alto, assim como seus nós, os quais simbolizam os diferentes estágios do caminho, simbolizam o objetivo do nosso itinerário interior, o nosso crescimento e a evolução em direção à meta."

Eduardo Fonseca

RESUMO

No município turístico de Balneário Camboriú (SC), o crescimento urbano e populacional desordenados e a execução de obras costeiras sem adequada avaliação têm gerado diversos impactos ambientais visíveis e afetado a qualidade sanitária das águas e sedimentos tanto do rio Camboriú como da enseada e praia adjacentes. Um dos mais recentes e alarmantes fenômenos verificados no local são as florações e subsequêntes arribadas de briozoários (*Membraniporopsis tubigera* e *Arboscuspis bellula*), associados com diatomáceas epibênticas (*Amphitetras antediluviana* e *Biddulphia biddulphiana*). Vários indícios associam esses fenômenos, iniciados em 2003, com os excessos de nutrientes e matéria orgânica aportados na enseada e com alterações na estrutura ecológica bentônica causada por grandes obras costeiras como dragagens, aterros e construção de molhes. Sendo um problema estético e sanitário, a preocupação da comunidade científica, dos órgãos públicos e da comunidade em geral tem se intensificado, à medida que esses fenômenos se tornam mais freqüentes e até persistentes. Assim, o presente trabalho aborda essa problemática complexa através de estudos ambientais e experimentais. Amostragens de barco, mergulhos e coleta de sedimento para a determinação da localização das espécies envolvidas foram realizadas bem como o monitoramento da ocorrência das arribadas através de dados cedidos pela empresa de limpeza pública constituíram a parte ambiental da abordagem. O isolamento, cultivo e avaliação das condições de crescimento das diatomáceas em laboratório e a análise química da biomassa e metabólitos secundários do material arribado constituíram a parte experimental/laboratorial. A espécie isolada *A. antediluviana* cresceu satisfatoriamente em cultivo laboratorial, experimentos fisiológicos foram conduzidos somente com essa espécie, que também mostrou ser a predominante nas arribadas. A espécie inicialmente inoculada em meio F/2, através de testes de crescimento respondeu melhor ao crescimento em meio IMR, com maior concentração de silicato em salinidades 30 e 35, onde foi mantida. Gráficos confeccionados com dados obtidos através da empresa (Coneville), mostram uma tendência sazonal das arribadas, com mais intensas ocorrências em meses mais quentes. Em relação a composição química da biomassa arribada, apesar do baixo rendimento de ácidos graxos, os mesmos são em sua maior composição saturados, que são interessantes para a produção de biocombustíveis. A elevada biomassa disponível pode compensar o baixo rendimento em lipídeos. A biomassa dos briozoários apresentou atividade antimicrobiana alta para alguns microrganismos teste. Adicionalmente, são levantadas algumas hipóteses sobre as causas das arribadas.

Palavras-chave: arribadas, microfítobentos, Bryozoa, Bacillariophyceae, impacto ambiental, bioinvasão.

ABSTRACT

Balneário Camboriú (SC – Brazil) is a touristic city where the disordered growth of the urban population and the implementation of coastal works without proper evaluation have generated many visible environmental impacts and affected the sanitary quality of water and sediment of both Camboriú River and marine adjacent area. One of the most recent and alarming phenomena observed are the blooms of bryozoans (*Membraniporopsis tubigera* and *Arboscuopsis bellula*) associated with epibenthic diatoms (*Amphitetras antediluviana* and *Biddulphia biddulphiana*). Several clues associate these phenomena, started in 2003, with the excess of nutrients and organic matter in the Camboriú cove and large coastal works such as dredging, landfills and construction of jetties, leading to changes in benthic ecological structure. Being an aesthetic and health problem, the concern of the scientific community and government agencies have intensified as these phenomena become more frequent and even persistent. Thus, this research addresses this complex issue through environmental and experimental studies. Samplings of the benthic material collected by boat and diving, as well as a monitoring of the occurrence of blooms were the environmental part of the approach. The isolation, culture and assessment of the growth conditions of the diatoms in laboratory and chemical analysis of biomass constituted the experimental / laboratory work. The isolated species *A. antediluviana* grew satisfactorily in laboratory cultivation, physiological experiments were conducted only with this species, which also proved to be the predominant in the blooms. The species was initially inoculated into F/2 medium, but showed better growth in IMR medium, with a higher concentration of silicate in salinities 30 and 35. Data obtained from the municipal authorities showed a seasonal trend for the blooms, with more conspicuous events in warmer months. Regarding the chemical composition, despite the low yield, the fatty acids were mainly composed by saturated molecules, which are interesting for the production of biofuels. The high availability of biomass can offset the low performance in lipids. The biomass of bryozoans showed antimicrobial activity against some test microorganisms. Additionally, some hypotheses about the causes of the blooms are raised.

Keywords: blooms, microphytobenthos, Bryozoa, Bacillariophyceae, environmental impact, bioinvasion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localização da Área de Estudo, Enseada de Camboriú, SC, Brasil, Fonte: O autor.	31
Figura 2. Coleta de algas e briozoários arribados na Praia Central de Balneário Camboriú sendo realizada pelo serviço municipal.....	32
Figura 3. Localização aproximada dos pontos de coleta de água e sedimentos ou mergulhos para verificação da presença dos organismos-alvo (diatomáceas e briozoários) na Enseada de Camboriú. Os números em branco indicam pontos amostrados nos embarques de 18/11/2012 e 28/03/2013, quando houve coleta de água e sedimento a partir da embarcação. Os números em amarelo indicam pontos amostrados em 07/12/2013 quando foi realizado mergulho autônomo para coleta de sedimento e rochas ou visualização direta da presença de espécies alvo no substrato.	34
Figura 4. a-f: <i>Amphitetras antediluviana</i> Ehrenberg; a- Em meio F/2 (in vivo); b- Fixada em formaldeído 2% (pseudo-ocelo); c- Fixada em formaldeído 2% (divisão celular); d- Lâmina permanente (detalhe conectivo tridimensional); e- Lâmina permanente (valva e conectivo);f- Lâmina permanente(poros).g-l: <i>Biddulphia biddulphiana</i> (J.E.Smith) Boyer g- Em meio F/2 (in vivo); h- Fixada em formaldeído 2% (detalhe ocelo); i- Fixada em formaldeído 2% (detalhe material celular); j- Lâmina permanente (detalhe conectivo); k- Lâmina permanente (detalhe conectivo); l- Lâmina permanente (detalhe valva).	44
Figura 5. a-porção superior de <i>Arbocuspis bellula</i> ; b-briozoário <i>A. bellula</i> envolvido pelas cadeias de algas; c - porção medial do briozoário; d - detalhes de <i>A. bellula</i> , <i>A. antediluviana</i> , <i>B. biddulphiana</i> ; e-f : detalhe espinhos.	45
Figura 6. Mapa do município Balneário Camboriú - SC, relacionado ao gráfico realizado a partir dos dados cedidos pela Coneville. Relação Biomassa (t)/Rua/Mês.	48
Figura 7. Gráfico apresentando o total de biomassa(t)/mês durante o período de agosto de 2011 a abril de 2013. Dados cedidos pela Empresa Coneville.	49

Figura 8. Detalhes das amostras de sedimento coletadas para a verificação da presença de material-alvo (diatomáceas e briozoários). a- coleta com draga; b- sacos com sedimento; c-material alvo visível, retirado diretamente da draga; d- sedimento depositado em bandeja para análise macroscópica; e- preparação de lâminas para análise microscópica.	53
Figura 9. Taxas de crescimento da diatomácea <i>Amphitetras antediluviana</i> em diferentes meios e salinidades.	59
Figura 10. Composição dos ácidos graxos saturados produzidos pela biomassa das arribadas, médias entre as diferentes datas.	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tipos de amostragens realizadas em Balneário Camboriú entre 2011 e 2013, suas características e objetivos.	33
Tabela 2. Proporção entre as espécies de diatomáceas em amostras de material arribado na praia de Camboriú, em percentual médio entre réplicas e média geral.	50
Tabela 3. Características dos substratos/sedimentos da Enseada de Camboriú coletados ou observados para a verificação da presença dos organismos-alvo em 3(três) ocasiões. Os pontos se referem à Figura 3.	53
Tabela 4. Concentrações molares de nutrientes (N, P e Si) nos diferentes meios de cultura utilizados e as suas proporções atômicas. M = molar.	60
Tabela 5. Percentuais de lipídios totais e proporção de diatomáceas e briozoários nas 5 amostras de material arribado analisadas.	61
Tabela 6. Extrapolação de dados para a média entre as extrações em relação à amostra de (0,2 g). Conteúdo em lipídios kg/ton, biomassa/dia e biomassa mês (dados Coneville), umidade das amostras em % (peso úmido – peso seco), estimativa da biomassa seca/dia e estimativa da biomassa seca/dia e estimativa da biomassa seca/mês. Lipídios/dia e lipídios/ mês.	62
Tabela 7. Perfil de ácidos graxos (%) em 4 amostras de arribadas analisadas. Média e desvio padrão (DP) entre 3 injeções cromatográficas.	64
Tabela 8. Conteúdo em carbono orgânico total de amostras de arribadas (% para 2,0mg de amostra liofilizada). DP= desvio padrão; CV= coeficiente de variação; % diat.= percentual de diatomácea na amostra; % brio.= percentual de briozoários na amostra.	67
Tabela 9. Análise da Variância para o conteúdo de Carbono analisado, com intervalo de 95% de confiança.	68
Tabela 10. Teste de Tukey, com $p < 0,05$ para o conteúdo de carbono quantificado entre os tratamentos. Valores seguidos de * apresentam diferença significativa.	68
Tabela 11. Análises realizadas no Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, para realização de testes de difusão em disco demonstrando atividade antimicrobiana contra 14 microorganismos.	69

SUMÁRIO

1. Introdução.....	21
2. Objetivos	29
2.1. Objetivo geral.....	29
2.2. Objetivos específicos	29
3. Materiais e Métodos	31
3.1. Área de estudo.....	31
3.2. Amostragens e monitoramentos realizados	32
3.3. Identificação e caracterização morfológica das duas espécies de diatomáceas.....	35
3.4. Identificação e caracterização morfológica das espécies de briozoário envolvidas.....	35
3.5. Proporção das duas espécies de diatomáceas.....	35
3.6. Isolamento e cultivo das duas espécies de diatomáceas	35
3.7. Experimentos ecofisiológicos	36
3.8. Processamento da biomassa	37
3.9. Caracterização da biomassa	37
3.9.1. Lipídios	37
3.9.2. Perfil de ácidos graxos	38
3.9.3. Carbono orgânico total (TOC)	39
3.9.4. Atividade antimicrobiana do extrato	39
4. Resultados e Discussão	41
4.1. Identificação e caracterização morfológica das duas espécies de diatomáceas.....	41

4.2. Identificação e confirmação das espécies de briozoários envolvidas	45
4.3. Monitoramento diário das arribadas	46
4.4. Proporção das duas espécies de diatomáceas envolvidas.....	49
4.5. Presença das ‘espécies-alvo’ na coluna de água e sedimentos da enseada e estuário	50
4.6. Experimentos ecofisiológicos	58
4.7. Caracterização da biomassa	60
4.7.1. Lipídios totais	60
4.7.2 Ácidos graxos	63
4.7.3. Carbono orgânico total.....	66
4.7.4. Atividade antimicrobiana do extrato.....	68
5. Conclusões	71
6. REFERÊNCIAS.....	73

1. Introdução

Nos últimos anos, as perturbações antrópicas (poluição orgânica, industrial e construções à beira mar que alteram a linha de costa) ou naturais relacionadas direta ou indiretamente às mudanças climáticas globais (frentes frias, aumento da vazão de rios próximos, mudanças na direção dos ventos, etc.), vêm afetando os ecossistemas marinhos, causando visíveis modificações no desenvolvimento, sobrevivência e dispersão dos organismos do fitoplâncton, selecionando uma biota adaptada com complexos padrões de distribuição espacial e temporal (Harris 1986; Rörig et al. 2006). Nestes ecossistemas, populações de microalgas abastecem numerosas cadeias alimentares e comumente são acumuladas na superfície formando manchas (Talbot et al. 1990). Até agora, as investigações sobre o fitoplâncton da zona de arrebenção de praias arenosas se concentraram no Sul do Brasil, sendo que a maioria dos esforços se referem a investigação dos processos formadores das acumulações de microalgas da zona de arrebenção (Odebrecht et al. 1995; Odebrecht & Abreu 1997; Rezende & Brandini 1997; Rörig et al. 1997; Rörig & Garcia 2003). Nesses eventos, tratam-se de diatomáceas que alternam de habitat entre o epibêntico e o planctônico/neustônico, processo conduzido por eventos de ressaca que as ressuspendem e transportam para a zona de arrebenção interna.

No caso dos fenômenos abordados por esse projeto, o processo de acumulação de células é diferente, pois as microalgas não apresentam uma fase de flutuação positiva, não ficam em suspensão. As microalgas formadoras de manchas se acumulam junto ao fundo na zona de arrebenção interna e com o movimento da ondulação e marés chegam até a zona de espraiamento. Tais fenômenos são conhecidos como arribadas e ocorrem mais comumente com macroalgas.

As diatomáceas bênticas são o componente principal das comunidades de algas microscópicas que colonizam as zonas de sedimentos intertidais na maioria dos estuários e áreas costeiras, formando extensos biofilmes à superfície desses sedimentos. Essas comunidades são também conhecidas como microfitobentos (MPB) e são responsáveis pela elevada produção primária nos espraiados de maré, que pode corresponder a 50% do total da produção primária estuarina (Underwood & Kromkamp, 1999).

As duas espécies microfitobênticas envolvidas nos fenômenos aqui estudados são diatomáceas de habitat epibêntico, formadoras de

longas cadeias e apresentam-se como uma massa densa, emaranhando-se e ganhando peso o que facilita o processo deposição na areia. No caso da Enseada de Camboriú (SC – Brasil), essas microalgas apresentam-se associadas de forma entrelaçada a briozoários.

Florações de algas e invertebrados bênticos, muitas vezes são resultantes de uma invasão biológica, podendo ser prejudicial para a ecologia do ambiente marinho raso, substituindo nichos de diversas espécies nativas (Griffiths et al., 1991; Meinesz et al. 1993; Watson e Estes, 2011). Em alguns casos, estas florações podem representar uma alternativa de estado estável, atingindo níveis que são prejudiciais para concorrentes ou para espécies associadas que dependem das características do ambiente no estado natural. O surgimento dessas espécies invasoras, muitas vezes, é resultado de transporte humano acidental e a reversão da situação é muito difícil (Carlton, 1996; Ruiz et al 1997; Ruiz et al. 2000; Anderson, 2005). Além disso, estes eventos ocorrem com mais frequência em áreas de alta densidade populacional humana, em rotas de navegação (Ruiz et al. 1997), ou ecossistemas que já estão altamente impactados pela atividade humana (Lotze et al., 2006). Assim, as “explosões populacionais” de espécies exóticas, podem ser a principal causa da perda de diversidade biológica, podendo ser consideradas “poluentes biológicos”, causando danos à atividade pesqueira, riscos sanitários, gastos com manutenção de estruturas infectadas, entre outros. Embora em anos recentes tenha havido uma tendência de aumento dos eventos de bioinvasão em ecossistemas aquáticos, que podem gerar florações, não é possível definir se isso se deve a um agravamento do problema ou se apenas reflete o resultado de um maior esforço de pesquisa e conscientização. Os dados disponíveis são ainda esparsos e restritos a determinadas regiões e/ou espécies. Dessa forma, a inferência de tendências pode estar refletindo interesses específicos de pesquisa ao invés da velocidade das introduções e os seus padrões de dispersão. Apesar do esforço existente para produzir informações sobre o problema das bioinvasões nas águas brasileiras, a maioria das publicações sobre as invasões nos ecossistemas aquáticos corresponde às ocorrências na América do Norte e Europa; em contrapartida, a África, o Oceano Índico, o sudoeste do Oceano Pacífico e a América Latina estão ainda pobremente documentados (Pysek et al., 2008). No Brasil, até 2005, foram inventariadas 66 espécies exóticas invasoras que afetam o ambiente marinho. Considerando as quatro categorias de situação populacional (contida, detectada, estabelecida e invasora), essas espécies estão divididas nos subgrupos: fitoplâncton (3 espécies, 5%), macroalgas (10 espécies, 15%), zooplâncton (10

espécies, 15%), zoobentos (38 espécies, 57%), peixes (4 espécies, 6%) e bactéria pelágica (1 espécie, 2%). Destas, 43% foram consideradas detectadas em ambiente natural, 24% estabelecidas, 18% contidas e 15% invasoras (IBAMA, 2006). Em relação às microalgas aqui consideradas, além da Enseada de Camboriú, um único caso similar a esse foi relatado, tratou-se de uma floração de *Biddulphia biddulphiana*, na região das Ilhas Midriff no Golfo da Califórnia, México (Galland & Pennebaker, 2012). Porém nesse caso apenas observaram-se as algas crescendo sobre substratos consolidados, sem material arribado em praias.

Além de representar nitidamente uma anormalidade ecológica, a ocorrência dessas florações em Balneário Camboriú, um município altamente turístico, gera um impacto visual e econômico considerável, pois gera mau cheiro e obriga limpezas diárias da praia pelos serviços públicos.

A enseada de Camboriú recebe uma grande carga poluidora, veiculada pelo rio Camboriú e outras fontes poluidoras menores, difusas e pontuais. Apesar da existência de uma estação de tratamento de esgotos, esta apresenta em geral baixa eficiência e não está dimensionada para suportar o incremento populacional regional (Macedo et al., 2005). As áreas a montante da Bacia do Rio Camboriú não dispõem de sistemas de tratamento de esgotos e apresentam extensas áreas agrícolas (rizicultura), o que representa mais aporte de nutrientes. Por fim, destacam-se as alterações causadas por sucessivas dragagens na região estuarina e a construção dos molhes da barra sul no Rio Camboriú. Esse panorama complexo tem certamente influência sobre eventos de desequilíbrio ecológico de grande amplitude que vem sendo verificados e/ou se tornado mais intenso nos últimos 10 anos. No ano de 2002, por exemplo, a foz do rio Camboriú foi dragada e o sedimento depositado sobre a porção sul da praia (aterro da Barra Sul). Por se tratar de sedimento com características diferentes dos naturalmente encontrados na área, houve severas alterações nos padrões sedimentológicos da praia, com consequente aumento de turbidez da água (Abreu et al., 2003). A mobilização de sedimentos também removeu uma coroa arenosa com cerca de 20.000 m² junto à foz do rio, removendo também densas populações dos bivalves filtradores *Tagelus plebeius* e *Anomalocardia brasiliana* (Pezzuto et al., 2006). Bancos de suspensívoros estuarinos costumam funcionar como filtros biológicos naturais, eliminando o excesso de matéria orgânica proveniente da drenagem continental (Nybakken, 1993). A remoção desses “filtros naturais”, embora não tenham sido realizadas avaliações direcionadas, certamente determinou um incremento no aporte de detritos orgânicos

para a enseada adjacente. O impacto ecológico subsequente foi registrado durante o ano de 2003, quando mortandades massivas do bivalve suspensívoro *Tivela mactroides* foram registradas em toda a orla da enseada de Camboriú. Esse fenômeno foi resultado da migração dos sedimentos finos do aterro artificial da Barra Sul para porções mais profundas da enseada, e do conseqüente sufocamento dos organismos (Pezzuto et al., 2006). Em função da grande biomassa revelada pela magnitude dos depósitos de organismos mortos, este bivalve provavelmente constituía uma espécie dominante na assembleia bentônica do infralitoral raso, sendo esperado que sua remoção alterasse sensivelmente a estrutura trófica do ecossistema da enseada (Pezzuto et al., 2006). Em dezembro de 2003 tiveram início às arribadas dos briozoários *Membraniporopsis tubigera* Osburn e *Electra bellula* Hincks (= *Arbocuspis bellula*) (Gordon et al., 2006; Ramalho & Diehl, 2007), associados com as diatomáceas epibênticas, foco deste trabalho. Tais fenômenos persistem desde então.

Alem do aspecto ecológico relacionado a essas arribadas, existe a necessidade de compreender interações bioquímicas entre os organismos envolvidos e a possibilidade de essa biomassa ser tornada útil de alguma forma e não apenas ser encarada como lixo ou resíduo sólido. Nesse sentido, Kittelmann & Harder (2005) compilando diversos estudos, demonstraram que moléculas bioativas ou mediadores de assentamento larval não são produzidos somente pelos invertebrados hospedeiros, mas também por seus microrganismos associados, podendo tais moléculas serem promotoras ou inibidoras desse assentamento. Tais observações sugerem relações específicas entre hospedeiros e seus epibiontes e ainda a possibilidade de encontrar nessas associações moléculas biotecnologicamente interessantes.

Em relação às possibilidades de uso da biomassa, ressaltam-se os briozoários. Esses têm várias citações como produtores de moléculas bioativas. Nesse caso, a maioria pertence ao grupo dos alcalóides (Jha & Zi-rong, 2004). Há resultados mostrando alcalóides de briozoários com potentes atividades citotóxicas, antinematóides (nematóides parasitas), antiangiogênica, anti-câncer (leucemia, câncer renal, pulmonar e melanoma) e antimicrobianas. Outro grupo interessante de moléculas específicas de briozoários são as briostatinas. Tratam-se de lactonas macrolídicas com atividade anti-câncer e como agentes estimuladores da memória. Já as diatomáceas têm sido muito estudadas por seus conteúdos em lipídios, especialmente, ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), que têm propriedades nutraceuticas e, em alguns casos, atividade antibacteriana (Becker, 2004). Os percentuais de lipídios

encontrados em diatomáceas, que chegam a 30% da massa seca, também apontam essas microalgas como fontes para a produção de biodiesel (USDOE, 2010). Outros grupos de moléculas estudadas em diatomáceas são polissacarídeos diversos, que mostram atividade antibacteriana e antifúngica e as asterionellinas, com atividade antibacteriana (Borowitzka, 1999). A toxina amnésica ácido domóico talvez seja a molécula mais estudada em diatomáceas, porém sua produção é restrita a algumas espécies do gênero *Pseudo-nitzschia* (Congestri et al., 2007).

Os lipídios foram reconhecidos como componentes essenciais na nutrição humana, bem como para a alimentação da aquicultura. Os ácidos graxos, que constituem o conteúdo lipídico, especialmente o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosa-hexaenóico (DHA) não podem ser sintetizados em corpos humanos e animais, tendo que ser obtida a partir de alimentos. Insuficiência de EPA e DHA na dieta de animais marinhos pode resultar em desnutrição, anormalidade no desenvolvimento, crescimento retardado e até mesmo a morte, causando graves problemas na aquicultura (Yongnumitchai e Ward, 1989; Renaud et al., 1991; Reitan et al., 1994). Uma maneira de resolver este problema da desnutrição é fornecer-lhes suplementos com ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), especialmente EPA e DHA. Os rotíferos, copépodes e camarões de água salgada podem ser criados ou enriquecidos com microalgas ricas em EPA e DHA. Apesar de EPA e DHA, não serem essenciais para alguns animais, estes dois ácidos graxos incluídos na alimentação podem aumentar a taxa de crescimento e taxa de sobrevivência (Yongnumitchai e Ward, 1989; Renaud et al., 1991; Reitan et al., 1994). Os Ácidos graxos saturados também possuem sua importância como, por exemplo, o ácido palmítico (C16:0), um ácido graxo importante para alimentação infantil, encontrado de 20 a 30% no leite materno (Willis, W. M. et al., 1998). Os ácidos graxos saturados (AGS) são importantes na produção de biodiesel, com alto número de cetano e são menos propensos à oxidação que os compostos insaturados.

A composição de ácidos graxos de microalgas foi estudada pela primeira vez na década de 1940 (Millner, 1948). Até agora, mais de 100 espécies microalgas foram analisadas quanto à sua composição de ácidos graxos. As principais espécies de diatomáceas marinhas cujas composições de ácidos graxos têm sido estudadas são *Phaeodactylum tricorutum*, *Skeletonema costatum*, *Nitzschia closterium*. Diferenças nas estirpes de algas, fonte de algas e as condições de cultura, podem ser as razões para a ampla variação de conteúdo de ácidos graxos na mesma

espécie (Teshima et al., 1983; Thompson et al., 1990; Renaud et al., 1991; Yongmanitchai & Ward, 1991; Alonso et al. 1992).

Na tentativa de compreender os fenômenos de arribadas de briozoários e diatomáceas ocorrentes na enseada de Camboriú, um programa de monitoramento foi implantado em 2009 e detalhado em 2011, onde os fenômenos foram registrados; amostras dos materiais arribados foram analisadas quanto a composição de organismos e uma série de experimentos fisiológicos laboratoriais foram realizados para descrever a ecofisiologia das espécies de microalgas que florescem e arribam na praia. Além disso, o material arribado passou por análises químicas a fim de identificar se a biomassa pode ser utilizada para algum propósito prático (ex.: biocombustíveis).

Por se tratar de uma fonte de energia renovável e por seu uso ser menos danoso ao meio ambiente, a biomassa tem atraído muita atenção nos últimos tempos (MIC, 1985; MCT, 2002; USDOE, 1998). No entanto o uso *in natura* de óleos vegetais apesar de mostrar eficiência por quilômetros rodados em diversos testes com óleos virgens, ao mesmo tempo demonstraram a existência de algumas desvantagens no seu uso direto. Segundo Goering e Fry, 1984; Kobmehl e Heinrich, 1998; Ghassan et al., 2003 a alta viscosidade e a baixa volatilidade dos óleos vegetais *in natura* podem provocar sérios problemas ao bom funcionamento do motor. Dentre os problemas que geralmente aparecem após longos períodos de utilização, destacam-se a formação de depósitos de carbono por combustão incompleta, a diminuição da eficiência de lubrificação do óleo pela ocorrência de polimerização (no caso de óleos poli-insaturados) e a atomização ineficiente e/ou entupimento dos sistemas de injeção (Peterson et al., 1983; Pryde, 1983; Ma e Hanna, 1999).

Apostou-se em alternativas de adaptações de motores para a viabilização do uso dos óleos vegetais, mas foi em meados da década de 70 que surgiram as primeiras propostas de modificação de óleos vegetais através da reação de transesterificação. Cujos objetivos eram os de melhorar a sua qualidade de ignição, reduzir o seu ponto de fluidez, e ajustar os seus índices de viscosidade e densidade específica (Shay, 1993, Stournas et al., 1995; Ma e Hanna, 1999), que hoje em dia atendem aos parâmetros fixados pelas normas ASTM D6751, 2003 e DIN 14214, 2003, ou pela Portaria no 255 da ANP, 2003) que, apesar de provisória, já estabelece as especificações que serão exigidas para que esse produto seja aceito no mercado brasileiro.

Em termos ambientais, a adoção do biodiesel, mesmo que de forma progressiva, ou seja, em adições de 2% a 5% no diesel de petróleo

(MCT, 2002), resultará em uma redução significativa no padrão de emissões de materiais particulados, óxidos de enxofre e gases que contribuem para o efeito estufa (Mittelbach et al., 1985), bem como o aproveitamento de materiais que seriam descartados em aterros, como é o caso da biomassa que arriba a praia de Balneário Camboriú. Na atualidade como o setor automotivo vem sofrendo pressão dos órgãos ambientais fez com que o governo atual iniciasse um novo trabalho com vistas a utilizar óleos vegetais transesterificados. A viabilidade de cada matéria prima dependerá de suas respectivas competitividades técnica, econômica e sócio-ambiental.

As descrições acima expõem o panorama do problema abordado por esse trabalho. Uma tentativa de identificar causas de um distúrbio ambiental e, ao mesmo tempo, investigar o possível papel dos organismos citados na depuração das águas da enseada de Camboriú e o potencial de aproveitamento de sua biomassa para algum propósito mais nobre do que a deposição em aterros.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Determinar as características da biomassa de diatomáceas e briozoários que arribam a enseada de Camboriú (SC) e compreender aspectos da ecofisiologia de microalgas envolvidas.

2.2. Objetivos específicos

- a) Monitorar as arribadas e formular hipóteses sobre suas causas.
- b) Conhecer a variação sazonal da biomassa e composição das arribadas.
- c) Gerar dados sobre a ecofisiologia das microalgas envolvidas (diatomáceas epibênticas).
- d) Através de análises químicas, avaliar as possíveis aplicabilidades da biomassa das arribadas.

3. Materiais e Métodos

3.1. Área de estudo

A enseada de Camboriú, banhada pelas águas do Atlântico Sul, se estende pelo município de Balneário Camboriú e está localizada no Sul do Brasil, no estado de Santa Catarina (Figura 1), apresentando aproximadamente 7 km de extensão.

O município de Balneário Camboriú apresenta uma área aproximada de 46 km². É uma das cidades mais populosas do Estado, com seu desenvolvimento econômico basicamente voltado ao turismo. Na época do verão (alta temporada) a população fixa de 108.107 habitantes (IBGE, 2011) chega a alcançar 1 milhão de habitantes durante esse período, o que faz com que a carga orgânica (poluentes oriundos do esgoto doméstico) seja igualmente aumentada.

Nos meses de verão, esta contaminação tende a se tornar mais evidente, pois a estação de tratamento de esgotos do município não foi projetada para suportar o excedente populacional (Kuroshima et al., 1996).

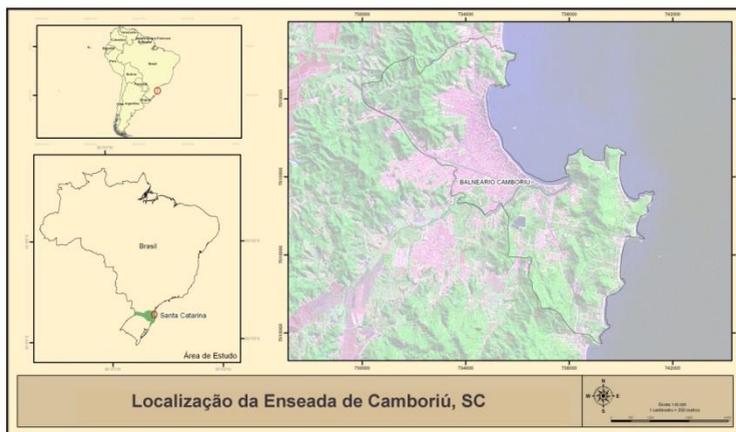


Figura 1. Mapa de localização da Área de Estudo, Enseada de Camboriú, SC, Brasil, Fonte: O autor.

Esse ambiente encontra-se bastante degradado e alterado por obras costeiras tais como a construção de molhes, aprofundamento do canal do rio Camboriú, dragagens e aterros diversos. Mortalidades e

arribadas de organismos marinhos (moluscos, briozoários, algas) (Figura 2) têm ocorrido desde 2003.



Figura 2. Coleta de algas e briozoários arribados na Praia Central de Balneário Camboriú sendo realizada pelo serviço municipal.

3.2. Amostragens e monitoramentos realizados

Quatro tipos de amostragens ou monitoramentos foram realizados: coluna de água, sedimentos, arribadas na praia, mergulho autônomo e monitoramento diário. A Tabela 1 apresenta as características e objetivos dessas amostragens e a Figura 3 mostra a localização de pontos amostrais durante os embarques, quando houve coleta de água e sedimento.

Tabela 1. Tipos de amostragens realizadas em Balneário Camboriú entre 2011 e 2013, suas características e objetivos.

Tipo	Objetivo	Procedimento	Período
Monitoramento diário	Determinar a ocorrência temporal e espacial de arribadas na praia de Camboriú (apoio: Coneville – Ambiental Saneamento e Concessões Ltda.	a Diariamente, os funcionários da empresa anotavam os locais de ocorrência e registravam a massa aproximada de material em toda a praia, através de pesagem dos sacos de lixo recolhidos*¹	Agosto/2011 – Abril/2013
Coluna de água na enseada e estuário	Análise qualitativa do fitoplâncton	Coleta de água estratificada com garrafa de Van Dorn, a bordo de lancha motorizada. Análise da presença/ausência das diatomáceas ao microscópio	18/11/2011 28/03/2012
Sedimento na enseada e estuário	Verificação da presença dos organismos alvo (ditomáceas bênticas e briozoários)	Coleta de sedimento com draga busca-fundo e de arrasto de fundo (Beam-trawl)	18/11/2011 28/03/2012
Mergulho autônomo	Verificação da presença e habitat dos organismos alvo.	Mergulho com câmera fotográfica e coleta de substratos duros para análise. Mergulho e coleta a partir de lancha motorizada.	07/12/2013
Arribadas na praia	Quantificação relativa de espécies; análises da biomassa	Coleta manual (amostragem composta com alíquotas em no mínimo 6 pontos)*²	18/11/2011 05/01/2012 01/02/2012 28/03/2012 29/06/2012

**1: A empresa enviava mensalmente uma planilha com os seguintes dados: data, local (rua), horário, massa de material por local, massa total de material coletado no dia e imagens (fotos) dos locais de coleta.*

**2: No laboratório, um volume maior de cada amostra (de 0,5 a – 2 kg) era congelado. Uma alíquota de cerca de 50 ml era fixada em formaldeído 2%, completada a 10 ml com água do mar filtrada. Outra*

alíquota fresca era colocada em meio de cultura F/2, salinidade 30, com água do mar filtrada (1:1) e mantida em bancada iluminada para verificar crescimento algal.



Figura 3. Localização aproximada dos pontos de coleta de água e sedimentos ou mergulhos para verificação da presença dos organismos-alvo (diatomáceas e briozoários) na Enseada de Camboriú. Os números em branco indicam pontos amostrados nos embarques de 18/11/2012 e 28/03/2013, quando houve coleta de água e sedimento a partir da embarcação. Os números em amarelo indicam pontos amostrados em 07/12/2013 quando foi realizado mergulho autônomo para coleta de

sedimento e rochas ou visualização direta da presença de espécies alvo no substrato.

3.3. Identificação e caracterização morfológica das duas espécies de diatomáceas.

Com as amostras de algas coletadas diretamente das arribadas, foram feitas análises microscópicas para confirmar as identificações. Essas foram feitas com material vivo, fixado e oxidado, conforme técnicas de processamento específicas para diatomáceas (Sournia, 1978). Os dados morfológicos foram comparados com dados da bibliografia sobre estas duas espécies. E assim confirmadas em seu gênero e epíteto-específico.

3.4. Identificação e caracterização morfológica das espécies de briozoário envolvidas.

Para a identificação da espécie envolvida alíquotas de material contendo em sua maioria, briozoários foram enviadas a uma especialista (Dra. Lais Vieira Ramalho) com intuito de identificação da espécie ou espécies envolvidas.

3.5. Proporção das duas espécies de diatomáceas.

Para análise de proporção foram montadas três lâminas de cada amostra das quais foram tiradas de 5 a 8 microfotografias aleatoriamente. As lâminas foram montadas com alíquotas da superfície do sedimento anteriormente coletado e fixado. A abundância das duas espécies foi determinada através de visualização digital das fotos com o auxílio do aplicativo LEICA 3.0, onde as células eram marcadas com mouse e automaticamente registradas em planilha Excel.

3.6. Isolamento e cultivo das duas espécies de diatomáceas

Foram coletadas em várias ocasiões amostras vivas das arribadas de algas na enseada de Camboriú, com o intuito de isolar as duas espécies em laboratório e sua manutenção para os testes fisiológicos. Foi utilizado inicialmente o meio de cultivo f/2 conforme Andersen (2006), que se constitui de água do mar filtrada e esterilizada e frações balanceadas de macronutrientes, elementos-traço e vitaminas.

Posteriormente, utilizou-se o meio IMR (Eppley et al., 1967) que apresenta diferenças nas concentrações de seus componentes em relação ao meio F/2 especialmente pela mais elevada concentração de silicato.

O isolamento de células foi tentado tanto pelo método de diluição seriada em placa de 24 poços, como pelo método de isolamento por capilar de uma única célula ou cadeia (Andersen, 2006). As condições de cultivo para as tentativas de isolamento foram: manutenção em Erlenmeyers de 250 ml (autoclavados), contendo 100 ml de meio de cultivo, e depositados em estantes com lâmpadas fluorescentes (Luzo do dia, Phillips – 58W, aproximadamente $50 \mu\text{Mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), fotoperíodo de 12h e temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.7. Experimentos ecofisiológicos

Uma vez verificada a adaptação fisiológica das espécies nas condições laboratoriais definidas (salinidade 35, $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $50 \mu\text{Mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), foram feitas reinoculações semanais para renovar os nutrientes, sendo que estes cultivos representam as cepas para os experimentos fisiológicos e para coleção de cepas do Laboratório de Ficologia (microalgas) da UFSC.

Para se determinar as taxas de crescimento da espécie isolada e aclimatada em cultivo laboratorial (*Amphitetras antediluviana*), foram utilizadas placas de 24 poços, colocando em cada poço 2 ml de meio e 0,5 ml de inóculo em cinco salinidades diferentes, (15, 20, 25, 30, 35) com 4 réplicas para cada salinidade, abrangendo a variação de salinidade encontrada no ambiente natural, e aproximando-se de valores extremos, provavelmente estressantes para as espécies. Essas salinidades foram testadas em três meios de cultura com concentrações de nutrientes diferentes, F/2, F (Andersen, 2005) e IMR (Eppley et al, 1967).

Para contagem de células foi utilizado microscópio invertido no aumento de 250X, sendo contadas todas as células presentes na faixa central de cada poço da placa, atendendo-se o critério de contagem mínima de 100 células. As contagens foram feitas imediatamente após o inóculo em T_0 e após 96 horas (T_n). Com os dados de densidade de células inicial e final de cada amostra, foram calculadas as taxas de crescimento algal através da equação de crescimento exponencial (equação 1). As taxas de crescimento das amostras foram comparadas entre si através de ANOVA (um critério, Teste de Tukey) para testar diferenças significativas entre tratamentos, utilizando-se o aplicativo BIOESTAT 5.0.

$$\text{Equação 1: } \mu = \frac{(\ln N_n - \ln N_0)}{t_n}$$

onde: μ é a taxa de crescimento celular;

N_0 é a densidade de células por mililitro inicial;

N_n é a densidade de células por mililitro final:

t_n é o tempo da medida final após o começo do teste (=96h).

3.8. Processamento da biomassa

Após a coleta das arribadas na enseada de Camboriú, as mesmas foram armazenadas em sacos tipo Zip e etiquetadas. A biomassa úmida foi congelada em freezer e depois transferida para um liofilizador (Terroni Favel, modelo LT 1000/8). Após o processo de liofilização a biomassa foi mantida em freezer a -20°C até as análises.

3.9. Caracterização da biomassa

3.9.1. Lipídios

Para realizar uma avaliação prévia desse potencial, foram extraídos e quantificados os lipídios totais pelo método de Bligh & Dyer (1959), consiste em uma extração de gordura a frio que utiliza uma mistura de três solventes, clorofórmio, metanol, água. Inicialmente, a amostra foi liofilizada e depois misturada com metanol e clorofórmio que estão numa proporção que forma uma só fase com a amostra. Em seguida, adicionou-se mais clorofórmio e água de maneira a formar duas fases distintas, uma de clorofórmio, contendo os lipídios, e outra de metanol mais água, contendo as substâncias não lipídicas. A fase de clorofórmio com a gordura é isolada e, após a evaporação do clorofórmio, se obtém a quantidade de gordura por pesagem (gravimetria). O método tem uma série de vantagens, pois extraem todas as classes de lipídios, inclusive os polares; podendo ser utilizado em produtos com altos teores de umidade, além dos produtos secos e a determinação completa pode ser realizada em tubos de ensaio não necessitando de equipamentos especializados e sofisticados (Cecchi,

2007). Para a extração de lipídios totais em tubos de ensaio de vidro foram pesados 0,2 g da biomassa liofilizada e extraídos os lipídios com 1,5 mL de uma mistura clorofórmio: metanol (1:2, v:v). O tubo foi agitado por 5 min com vórtex. Adiciona-se 0,4 ml de água destilada e agita-se por mais 2min em vórtex. Segue-se adicionando 0,5 ml de clorofórmio em vórtex por mais 2 min. E conclui-se adicionando 0,5 ml de água destilada agitando por mais 2 min em vórtex. Após esse processo os tubos vão a centrifuga por 5 minutos a 3.000 rpm. Nesta etapa ocorre a separação de fases. Todas as etapas do procedimento de extração, da determinação dos lipídios totais e dos ácidos graxos foram realizadas em ambiente com baixa intensidade luminosa, com os tubos de ensaio recobertos com folha de alumínio, visando reduzir a foto-oxidação do material analisado. Para a completa extração dos lipídios as amostras permaneceram por 24 h a geladeira e cobertas com papel alumínio. O extrato lipídico foi recuperado com pipeta Pasteur e separado em outro tubo (com peso conhecido). Foram agregados 2mL clorofórmio aos tubos com a biomassa residual, os quais foram agitados em equipamento vórtex, e novamente centrifugados, conforme descrito anteriormente, recuperando-se totalmente a fase lipídica. Com pipeta Pasteur foi recuperada a fase clorofórmio: lipídio (inferior) e colocada no mesmo tubo. Em campanha de extração o clorofórmio foi evaporado e os tubos com amostra de lipídios totais foi pesado descontando-se o peso conhecido dos tubos para se saber o valor de lipídios para cada amostra.

3.9.2. Perfil de ácidos graxos

Com os extratos obtidos foi realizada a análise qualitativa e quantitativa de ácidos graxos por cromatografia gasosa. Essa última análise foi realizada no Laboratório de Ecologia de Microrganismos Marinhos da FURG (Universidade Federal do Rio Grande) com a colaboração do Prof. Dr. Paulo Cesar Vergne de Abreu.

Para a quantificação de lipídios totais foi utilizada a metodologia proposta por Rodriguez et al. (2007). A fração lipídica foi esterificada para obtenção dos metil-ésteres dos ácidos graxos, segundo metodologia proposta por Palau et al. (2007)

A determinação de ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo a gás modelo Varian – 3400CX equipado com detector de ionização de chama e coluna de sílica fundida contendo fase estacionária de polietileno glicol com 30 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro. O gás de arraste foi nitrogênio a 0,5 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor

e do detector foram 250 e 280 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi 100 °C seguida de aumento de 8 °C min⁻¹ até 230 °C, permanecendo por 20 min. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção com padrões e quantificados por normalização de áreas.

Os padrões de ácidos graxos utilizados (Sigma Supelco; Bellefonte, EUA) foram ácido caprótico (C6:0); ácido caprílico (C8:0); ácido cáprico (C10:0); ácido undecanóico (C11:0); ácido láurico (C12:0); ácido mirístico (C14:0); ácido miristoléico (C14:1); ácido palmítico (C16:0); ácido palmitoléico (C16:1); ácido margárico (C17:0); ácido margaroléico (C17:1); ácido esteárico (C18:0); ácido eláidico (C18:1 trans); ácido oléico (C18:1); ácido linoléico (C18:2); ácido α - linolênico (C18:3 n-3); ácido γ - linolênico (C18:3 n-6); ácido araquídico (C20:0); ácido gadoléico (C20:1); ácido eicosadienóico (C20:2); ácido eicosatrienóico (C20:3); ácido araquidônico (C20:4); eicosapentaenóico (C20:5); ácido beênico (C22:0); ácido erúico (C22:1); ácido docosadienóico (C22:2); ácido docosaheptaenóico (C22:6); ácido lignocérico (C24:0); ácido lignoceroléico (C24:1).

3.9.3. Carbono orgânico total (TOC)

Para a determinação carbono orgânico total (TOC) das amostras de arribadas, 2 mg de biomassa liofilizada foram utilizados. As amostras, em triplicata, foram submetidas à combustão catalítica (Analisador Vario TOC-Cube, Elementar®) mediante digestão da amostra em coluna a 950°C e detecção por infravermelho (NDIR detector), com desvio padrão de detecção de $\pm 1\%$. O gás de análise utilizado foi o Oxigênio com 99,995% de pureza, sob pressão de 1200 mbar e vazão de arraste de 200 mL.m⁻¹. Para a análise de dados e estatística, calculou-se a média dos valores para o conteúdo de Carbono Orgânico Total, esses foram submetidos a análise de variância ao nível de 5% de significância com teste posterior de TUKEY para identificação das diferenças entre os tratamentos.

3.9.4. Atividade antimicrobiana do extrato

A caracterização da atividade antimicrobiana do extrato refere-se à amostras coletadas em 01/02/2012, em função do volume predominante de briozoários em relação às demais coletas, suficiente para adequado procedimento de análise microbiológica. A amostra foi

enviada ao Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, para realização de testes de difusão em disco.

Os microrganismos utilizados para a avaliação biológica foram *Sporogenes perfringens* (ATCC 11437), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Shigella flexneri* (ATCC 12022), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC 10231) e *C. tropicalis* (ATCC 13803). As atividades antimicrobianas foram avaliadas pelo método de difusão em disco, descrito por Oliveira et al. Filtros de papel (6mmØ) foram impregnados com 20 µl das soluções de extratos (100 mg / ml de DMSO) e, em seguida, colocados em placas de Agar Muller-Hinton (HIMEDIA®), os quais foram inoculados com os microrganismos a serem testadas de acordo para o protocolo padrão descrito por Standard Institute Laboratory. As placas foram incubadas a 35 ± 1 ° C, e depois de 18 h os diâmetros das zonas de inibição foram medidos.

O controle negativo foi feito com filtro contendo apenas DMSO. A partir da sensibilidade do microrganismo testado foram selecionados antibióticos padrão, a saber: ampicilina (10 µg), oxacilina (1 µg), ceftazidina (30 µg), imipenem (10 µg), cloranfenicol (30 µg), ofloxacina (5 µg), doxiciclina (30 µg) e da gripe-conazole (25 µg).

4. Resultados e Discussão

4.1. Identificação e caracterização morfológica das duas espécies de diatomáceas

Em todas as amostras obtidas para as diatomáceas estudadas nesse trabalho confirmou-se, após análise morfométrica das espécies em microfotografias (Figura 6), a identidade das duas espécies, sendo seu enquadramento sistemático e informações biológicas e biogeográficas descritivas apresentadas abaixo:

Enquadramento sistemático das duas espécies de diatomáceas estudadas:

1) *Amphitetras antediluviana*

Império Eukaryota

Reino Chromista

Divisão Heterokontophyta

Classe Coscinodiscophyceae

Ordem Triceratales

Família Triceratiaceae

Gênero *Amphitetras*

Espécie: *Amphitetras antediluviana* Ehrenberg

Publicação original: Ehrenberg, C.G. (1840).
Über noch zahlreich jetzt lebende Thierarten der Kreidebildung und den Organismus der Polythalamien. pp. 1-94, pls 1-4. Berlin.

Descrição (baseado no Algaebase - www.algaebase.org): Células formadoras de colônias em zigue-zague, atadas a macroalgas, muitas vezes com almofadas de mucilagem evidentes entre as células; estas almofadas aparecem as vezes como colarinhos. Plastídios numerosos, em forma de placa. Provavelmente de distribuição mundial. Valvas quadradas, muitas vezes com lados côncavos. Sobreposta à morfologia quadrada existe uma cúpula central circular com um centro deprimido. Ocelos proeminentes ocorrem em baixas elevações nos ângulos. Aréolas ocluídas por cribra localizado perto da superfície exterior, alguns dos quais suportam espículas finas. A borda do manto da valva é formada na flange interna e externa, esta última está virada para cima paralelamente ao manto da valva e é muitas vezes bastante profundo e em algumas

valvas finamente granuladas. Internamente, o sistema de costas cêntricas irradiantes é óbvio. Rimopórtulas ausentes. Cópulas estão completas, areoladas com cribras da mesma forma que as da valva, mas encontra-se alinhada com o quadro silicioso. O quadro silicioso da valva é muito semelhante ao de *Isthmia*. O gênero *Amphitetras* foi colocado anteriormente em *Biddulphia*, *Triceratium* e *Stictodiscus*. Com a redefinição desses gêneros *Amphitetras* permanece como uma entidade distinta. Um relato extremamente detalhado e fascinante de *A. antediluvianuna* é dado por Liebisch (1928), no qual ele também indica a formação de auxósporo envolvendo expansão do citoplasma na região distal do hipocíngulo que se divide a medida que a parede do auxósporo se forma. A célula primária é formada dentro do auxósporo enquanto ainda ligados à hipovalva.

2) *Biddulphia biddulphiana*:

Império Eukaryota

Reino Chromista

Divisão Heterokontophyta

Classe Coscinodiscophyceae

Ordem Biddulphiales

Família Biddulphiaceae

Gênero *Biddulphia*

Espécie: *Biddulphia biddulphiana* (J.E.Smith) Boyer

Publicação original: Boyer, C.S. (1900). The biddulphoid forms of North American Diatomaceae. *Proceeding soft He Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 1900: 685-748.

Descrição (baseado no Algaebase - www.algaebase.org): Células robustas, retangulares em vista conectival, elípticas em vista valvar, com elevações proeminentes nos pólos. Normalmente observadas em vista conectival, muitas vezes crescendo em zigue-zague, ocorrendo presas a algas filamentosas etc. Muitas vezes, encontrados também em amostras de plâncton costeiras. Plastídios numerosos, discoidais. Gênero marinho muito comum, mas taxonomicamente extremamente confuso. Valvas bipolares lanceoladas a quase circulares, muitas vezes com margens de cera. Superfície valvar muitas vezes franzida com vários espessamentos, espinhos ou cumes. Ápices portadores de pseudocelli arredondados em altitudes baixas ou estendidas. Manto da valva não está bem definido, mas com borda extrema frequentemente recurvada e variadamente moldada. Aréolas grande com perfurações do tipocribrum. Poros

simples também ocorrem ocasionalmente no âmbito da valva. Internamente com conspícuo rebordo liso (pseudosepta) sob as reentrâncias externas da válvula. Presença de várias rimopórtulas, sésseis, agrupadas no centro; tubos externos, muitas vezes encimado por duas espinhas. Cíngulo com uma valvocópula completa e 3-4 cópulas divididas; aréolas grandes, em linhas.

A principal novidade a ser relatada sobre a biologia e sistemática das duas espécies é que não há registro similar de ocorrências em massa das mesmas da maneira como foi e tem sido registrado em Balneário Camboriú – SC, especialmente quando considerada sua associação aos briozoários e a coocorrência das duas espécies. Essa situação sugere um aprofundamento maior dos estudos das espécies na região para discriminar quais seriam os fatores específicos no local para tais ocorrências. Provavelmente seja uma questão multifatorial e de grande complexidade, uma vez que a quantidade e diversidade de impactos que a região em estudo apresenta são muito elevadas. Ou seja, certamente não se trata de um evento natural, mas condicionado por alterações antropogênicas que possibilitaram seu sucesso após um fenômeno de bioinvasão.

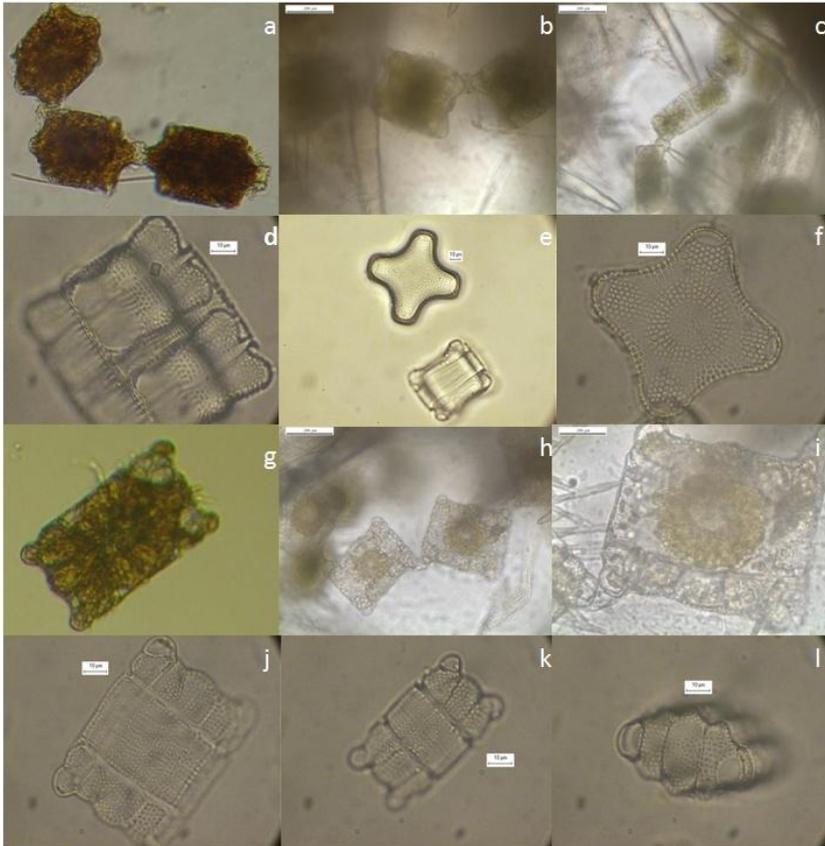


Figura 4. a-f: *Amphitetras antediluviana* Ehrenberg; a- Em meio F/2 (in vivo); b- Fixada em formaldeído 2% (pseudo-ocelo); c- Fixada em formaldeído 2% (divisão celular); d- Lâmina permanente (detalhe conectivo tridimensional); e- Lâmina permanente (valva e conectivo); f- Lâmina permanente (poros). g-l: *Biddulphia biddulphiana* (J.E.Smith) Boyer g- Em meio F/2 (in vivo); h- Fixada em formaldeído 2% (detalhe ocelo); i- Fixada em formaldeído 2% (detalhe material celular); j- Lâmina permanente (detalhe conectivo); k- Lâmina permanente (detalhe conectivo); l- Lâmina permanente (detalhe valva).

4.2. Identificação e confirmação das espécies de briozoários envolvidas

O material coletado em diversos pontos na praia (manualmente) e no fundo da enseada (com draga) nos dias 18/11/11, 05/01/12, 31/01/2012, 01/02/2012 e 28/03/2012 foram analisados ao microscópio para identificação e depois enviado para a Dra. Laís Vieira Ramalho que confirmou a presença de uma única espécie: *Arbocuspis bellula* (Hincks, 1881) antigo *Electra bellula* (Figura 7). Identificações realizadas anteriormente também apontaram a presença de *Membraniporopsis tubigera* porém esta não foi verificada nas quatro datas acima citadas, que geraram as amostras enviadas à especialista. Essa espécie foi citada em diversas ocorrências de fenômenos similares no Brasil e Uruguai até o ano de 2005 (Gappa et al., 2010). Essa situação sugere uma continuidade de monitoramento além da análise de amostras coletadas em outras datas recentes para confirmar se *M. tubigera* deixou de ocorrer, sendo substituída nos últimos anos por *A. bellula* ou se há alguma inconsistência na identificação de *A. bellula* nas amostras citadas por Gappa et al. (2010). Uma mudança na espécie dominante seria um fenômeno de explicação ainda mais complexa, uma vez que os nichos das duas espécies parecem similares, sendo difícil se tratar de processo de sucessão ecológica.

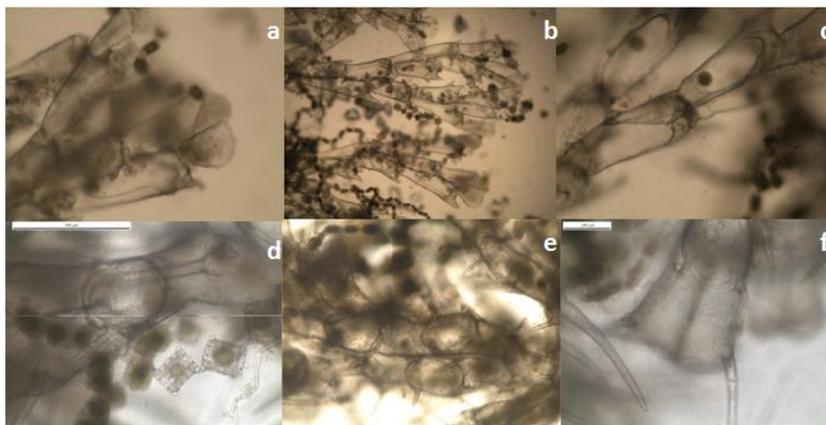


Figura 5. a- porção superior de *Arbocuspis bellula* ; b- briozoário *A. bellula* envolvido pelas cadeias de algas; c - porção medial do briozoário; d - detalhes de *A. bellula*, *A. antediluviana*, *B. biddulphiana*; e-f : detalhe espinhos.

Enquadramento sistemático da espécie de briozoário identificada nas amostras coletadas em 18/11/11, 05/01/12, 31/01/2012, 01/02/2012 e 28/03/2012:

1) *Arbocuspis bellula*

Império Eukaryota

Reino: Animalia

Divisão Bryozoa

Classe Gymnolaemata

Ordem Cheilostomatida

Familia Electridae

Gênero *Arbocuspis*

Espécie: *Arbocuspis bellula* (Hincks, 1881)

A espécie teve seu gênero modificado recentemente (Nikulina, 2010). Segundo a pesquisadora os espinhos de *E. bellula* são finos, quitinosos ou calcários em *E. bengalensis* cônicos, fortemente calcificadas em *E. biscuta*. Todos os três grupos de espécies são morfologicamente muito distintas e devem ser colocadas em três gêneros distintos. Assim foram aceitos três novos gêneros de Electridae (Bryozoa): *Arbopercula*, *Osburnea* e *Arbocuspis*.

Enquadramento sistemático da espécie de briozoário já citado para Balneário Camboriú e comum em outras ocorrências no Brasil e Uruguai, pelo menos até 2005.

2) *Membraniporopsis tubigera*

Império Eukaryota

Reino: Animalia

Divisão Bryozoa

Classe Gymnolaemata

Ordem Cheilostomatida

Familia Flustridae

Gênero *Membraniporopsis*

Espécie: *Membraniporopsis tubigera* (Osburn , 1940)

4.3. Monitoramento diário das arribadas

A partir dos dados cedidos pela Coneville foi confeccionado um gráfico relativo entre os pontos de coleta e a incidência das arribadas

considerando a localização das ruas, agrupadas mensalmente durante um ano e seis meses. Percebe-se uma maior incidência no pontal norte, entre as ruas 1601 e 2101, na região central, próximo da Avenida Alvin Bauer e Praça Tamandaré, e no sul, na região das ruas 2400 e 2700, onde normalmente são visualizadas grandes quantidades dessa biomassa arribada.

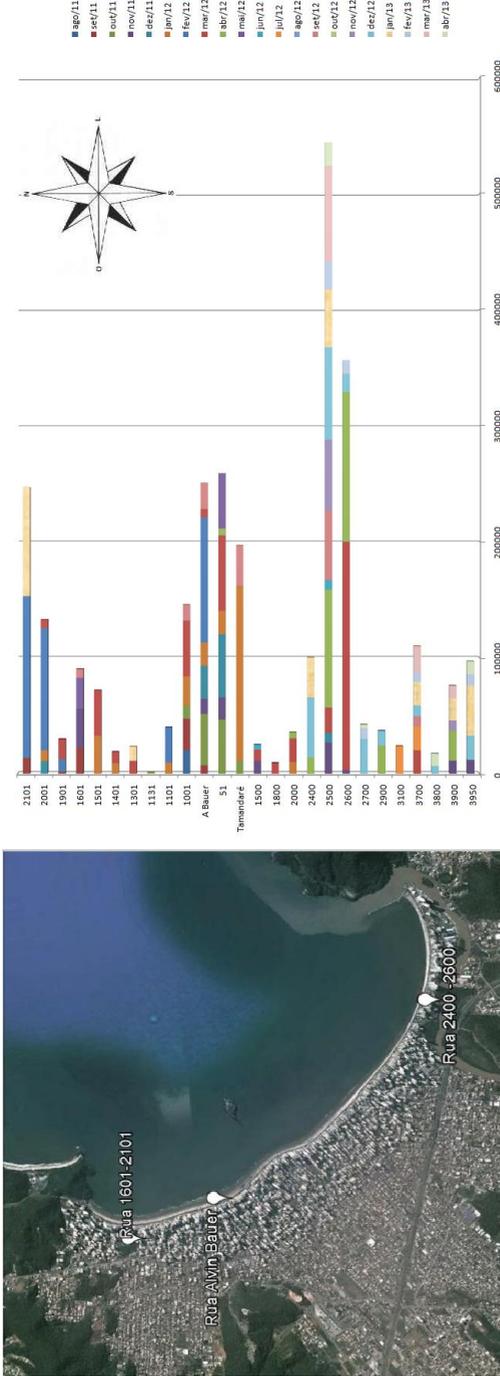


Figura 6. Mapa do município Balneário Camboriú - SC, relacionado ao gráfico realizado a partir dos dados cedidos pela Coneville. Relação Biomassa (t)/Rua/Mês.

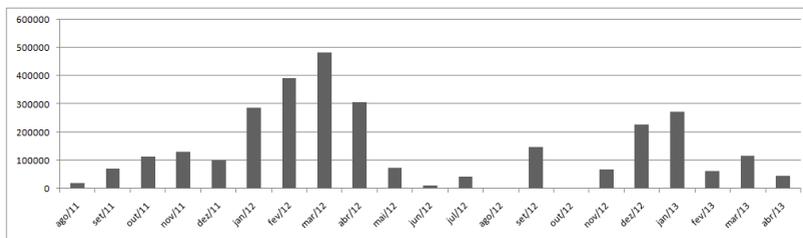


Figura 7. Gráfico apresentando o total de biomassa(t)/mês durante o período de agosto de 2011 a abril de 2013. Dados cedidos pela Empresa Coneville.

Na figura 7 se pode perceber a tendência de uma ocorrência sazonal na arribadas. Nos meses verão, em 2011, as arribadas apresentaram-se mais presentes e em maior biomassa se estendendo até maio de 2012, um pico é percebido no mês de setembro, onde se inicia a primavera e em sequência novos eventos de arribadas, nos meses mais quentes iniciando em novembro de 2012, com aumento em dezembro e janeiro de 2013, seguindo até abril de 2013, no entanto com biomassa reduzida e comparação com os mesmos meses de 2012. Em julho de 2012 a prefeitura do município juntamente a EMASA (empresa responsável pelo tratamento de água e esgoto) iniciou a instalação de uma galeria pluvial na Avenida Atlântica, que se encontra paralelamente a enseada. Esse acontecimento poderia ser a causa da redução da quantidade de biomassa arribada, pois pode estar contribuindo com a diluição da matéria orgânica veiculada a praia por entradas não pontuais de dejetos.

Conforme já relatado por Ramalho & Diehl (2007), a composição dos depósitos de organismos marinhos parece exibir uma sazonalidade, com predomínio de briozoários nos meses mais quentes, e de microalgas no restante do ano. A ocorrência de detritos e macroalgas parecem mais acidentais, ou seja, são massas de materiais flutuantes aprisionadas pelas massas de microalgas e briozoários.

4.4. Proporção das duas espécies de diatomáceas envolvidas

Analisando-se diversas alíquotas de amostras de arribadas coletadas em 5 dias diferentes, foi possível concluir a tendência de maior importância quantitativa de *A. antediluviana* (Tabela 3), apesar de terem estruturas e provavelmente nichos similares. As espécies-alvo são ambas formadoras de cadeias longas, crescendo entrelaçadas entre si,

formando uma rede, isso torna bastante dificultosa sua contagem, porém o novo método de contagem utilizado foi eficiente para a geração de dados bastante seguros.

Tabela 2. Proporção entre as espécies de diatomáceas em amostras de material arribado na praia de Camboriú, em percentual médio entre réplicas e média geral.

Data de coleta das amostras	% médio de <i>Amphitetras antediluviana</i>	% médio de <i>Biddulphia biddulphiana</i>
05/01/2012	81,3	18,7
28/03/2012	58,9	41,1
25/06/2012	60,4	39,6
27/01/2013	64,0	36,0
07/02/2013	54,6	45,4
Média geral	63,8	36,2

4.5. Presença das ‘espécies-alvo’ na coluna de água e sedimentos da enseada e estuário

A verificação da presença tanto das diatomáceas como dos briozoários acompanhantes em amostras de água e sedimentos na enseada de Camboriú e estuário do rio Camboriú é importante para se compreender a origem e a dinâmica das arribadas. Ou seja, de onde vêm os inóculos, onde eles crescem e como se acumulam na praia. Nos dois embarques realizados na enseada, quando foram coletadas 10 amostras integrais de água em subsuperfície e à 1m do fundo (garrafa de Niskin), não foram encontradas quaisquer células das duas espécies de diatomáceas e dos briozoários ocorrentes nas arribadas verificadas em praia (espécies-alvo). Tampouco foram verificadas as presenças dessas espécies nas amostras de rede geradas em paralelo. A localização dos pontos amostrados está apresentada na figura 3. Essa informação confirma a característica bêntica do material, seja no que se refere a seu habitat como ao seu transporte. Ou seja, o material que arriba à praia não é transportado em suspensão, mas sim junto ao fundo, na interface coluna de água – sedimento. De fato, em observações de campo sempre se verificou a movimentação das massas de material junto ao fundo,

mesmo na zona de arrebentação de ondas, até se depositarem no mesolitoral. A progressão do material parece ser contínua, mas avança a medida que a maré se eleva. A deposição, por sua vez, é sempre verificada na maré baixa, período em que a empresa de limpeza urbana de Balneário Camboriú executa a coleta do material. Outra implicação desse comportamento junto ao fundo é que somente organismos que se alimentam na zona bêntica poderão interagir com essas massas de material, ou seja, organismos zooplancônicos provavelmente não se alimentam das diatomáceas envolvidas, assim como organismos nectônicos pelágicos. No caso das diatomáceas envolvidas, outros dois aspectos podem ser concluídos: elas dificilmente irão competir por nutrientes dissolvidos presentes na coluna de água com o fitoplâncton e, o acesso a luz para essas algas bênticas será limitado. Em outras palavras, se houver grandes biomassas fitoplanctônicas, haverá possível limitação de luz para essas diatomáceas bênticas, já que a maior parte da luz será absorvida na coluna de água. Em relação aos nutrientes, é possível que as diatomáceas bênticas estejam absorvendo nutrientes oriundos do sedimento (água intersticial), uma vez que deve haver um considerável fluxo de água intersticial rica em nutrientes na praia de Camboriú, devido à elevada ocupação do solo e geração subsequente de dejetos. A importância da água intersticial na veiculação de nutrientes para a zona bêntica costeira já foi apontada em diversos estudos, ao ponto de esse aporte ser reconhecido como mais importante que os aportes superficiais em muitos sistemas, especialmente os que apresentam zonas urbanas ou ecossistemas aquáticos produtivos próximo a zona costeira (Szymczycha et al., 2012; Nienchesky et al., 2007). Nesse sentido, o fluxo de nutrientes via água intersticial pode ser uma explicação parcial para o fenômeno das arribadas, uma vez que provavelmente em Balneário Camboriú as concentrações de nutrientes por essa via sejam maiores que em praias adjacentes, onde não se verificam as arribadas.

Quanto às coletas de sedimento, realizadas com draga busca-fundo, os resultados estão apresentados na tabela 3. Na Figura 8 podem ser visualizadas as amostras de sedimentos e seu aspecto macroscópico em situações com e sem presença de material-alvo (diatomáceas e briozoários).

Esses resultados permitiram concluir que o material está presente em vários pontos da enseada em áreas de fundo inconsolidado (arenoso) ou estava em processo de arribamento, junto às algas. Novamente, esta constatação mostra que as arribadas são formadas

gradual e continuamente, à medida que o material é direcionado para a praia junto ao fundo.



Figura 8. Detalhes das amostras de sedimento coletadas para a verificação da presença de material-alvo (diatomáceas e briozóários). a- coleta com draga; b- sacos com sedimento; c-material alvo visível, retirado diretamente da draga; d- sedimento depositado em bandeja para análise macroscópica; e- preparação de lâminas para análise microscópica.

As áreas de fundos rochosos (consolidados) foram amostradas por mergulho autônomo realizado em 07 de dezembro de 2013 (Dr. Paulo Antunes Horta Jr. - LAFIC – UFSC). Foram realizados mergulhos em 5 áreas de fundo rochoso da enseada, a saber: (#10) entorno da Ilha das Cabras, (#11) Costão Norte, (#12) Parcel entre a Ilha das Cabras e o Costão Norte, (#13) molhes da Barra Sul e (#14) Costão Sul (ver figura 3). A tabela 3 apresenta a descrição das áreas analisadas com mergulho.

Tabela 3. Características dos substratos/sedimentos da Enseada de Camboriú coletados ou observados para a verificação da presença dos organismos-alvo em 3(três) ocasiões. Os pontos se referem à Figura 3.

Ponto	Prof. (m)	Tipo de substrato	Características macroscópicas	Presença das espécies-alvo	Data da coleta/ Observação
#1	1,5	Lodoso	Cascalho biodetrítico	Não	18/11/2011
#2	1,7	Arenolodoso	Cascalho biodetrítico	Não	18/11/2011
#3	3,0	Arenolodoso	Ausência de material biológico	Não	18/11/2011
#4	1,8	Arenolodoso	Pouco material alvo e presença de outros organismos	Sim	18/11/2011
#5	2,2	Arenoso	Muito material alvo e presença de outros organismos	Sim	18/11/2011
#6	3,8	Arenoso	Presença de pouco material alvo	Sim	28/03/2012
#7	1,8	Lodoso	Presença de serrapilheira e cascalho biodetrítico	Não	28/03/2012
#8	3,6	Arenoso	Presença de serrapilheira e cascalho biodetrítico	Sim	28/03/2012
#9	3,2	Arenoso	Muitas cochas de <i>Tagelus</i> mortos	Não	28/03/2012
#10	1,7	Arenolodoso	Concha de <i>Tagelus</i> berbigão e outros, aspecto anaeróbio	Não	28/03/2012
#11	4,0	Rochoso	Presença considerável de macroalgas em fundos	Sim	07/12/2013

			rochosos e rochas soltas; presença de considerável diversidade de animais com esponjas, hidrozoários, alguns ouriços. Considerável deposição de sedimentos finos. Alguns briozoários presentes, em especial na face inferior de rochas soltas entre estas e fundos arenosos.		
#12	4,5	Rochoso	Rochas mais limpas, poucas algas, pouca deposição de sedimento, área de maior hidrodinâmica, seixos biogênicos, ausência de briozoários	Não	07/12/2013
#13	6,5	Rochoso	Rochas mais limpas, poucas algas, pouca deposição de sedimento, área de maior hidrodinâmica, seixos biogênicos, ausência de briozoários	Não	07/12/2013
#14	1,0	Rochoso	Área rasa, máximo 1,5m. Presença de algas, especialmente <i>Ulva</i> spp., e ausência de briozoários.	Não	07/12/2013
#15	4,0	Rochoso	Poucas algas. Presença de briozoários.	Sim	07/12/2013

Somente nos pontos #11 e #15 foram visualizados briozoários, porém, aparentemente contendo espécies diferentes das espécies que arribam na praia *Membraniporopsis tubigera* (Yin & Xia, 1999), relatada em outros trabalhos por Ramalho e Diehl (2007) e *Electra Bellula* (Hincks, 1880), também relatada e confirmada em amostras coletadas para esse trabalho pela mesma pesquisadora citada. A quantidade verificada também não foi grande e não justificaria uma superpopulação que sustentasse esses eventos de arribada. No entanto alguns estudos sobre briozoários em substratos consolidados mostram que *Electra tenella* (Hincks, 1880) que apresenta o mesmo gênero do briozoário *Electra belulla* (Hincks, 1880), cresce em substratos de detritos de natureza antropogênica flutuando nos oceanos como um habitat (Farrapeira, 2011). Um trabalho realizado sobre a Macrofauna

bêntica, incrustante em substratos consolidados artificiais da Baía da Babitonga, Santa Catarina (Kauano, 2011) mostrou o mesmo briozoário *E. belulla* ocorrente nas arribadas, crescendo em flutuadores e bóias feitos de plástico colonizando somente esse tipo de substrato. Dez espécies de briozoários encontradas neste mesmo estudo estão presentes em um recente *checklist* dos briozoários do Brasil (Vieira et al., 2008). Farrapeira (2011) registrou a presença de 122 espécies bentônicas ocorrentes na costa brasileira, sendo 38 do táxon Bryozoa, dentre esses, 30 transportadas em materiais não identificados e 20 em resíduos sólidos abiogênicos flutuantes (plásticos), sendo comum a ocorrência para materiais de nylon, e três em metal e nenhuma para vidros. Dentre esses ocorrem o briozoários *Membraniporopsis tubigera* (Yin & Xia, 1999) considerado como espécie exótica e *Electra Tenella* (Hincks, 1880) como espécie criptogênica, ambas as espécies crescem em substratos em plástico e material não identificado (Farrapeira, 2011). O briozoário *Electra tenella* coletado em *Sargassum* flutuante na Flórida é encontrado predominantemente em resíduos plásticos carregados pelas correntes (Winston, 1982a). Segundo Barnes & Milner (2005) a durabilidade do plástico abre novas rotas e possibilidades de dispersão para as espécies, considerando que passam anos à deriva no mar, comparativamente aos detritos de natureza orgânica, tais como fragmentos de algas e fanerógamas, que podem ser degradadas e afundar em alguns meses.

O ambiente em estudo, a Enseada de Camboriú (Macedo et al., 2005), como a Baía da Babitonga (Oliveira et al., 2006), recebem carga poluidora e apresentam muitas das características citadas acima. O interior da baía, além da baixa salinidade variando entre 29 e 25, apresenta características ambientais peculiares que indicam influências antropogênicas, por exemplo, através do despejo de resíduos e efluentes nos corpos de água.

Após a análise dos locais mergulhados a conclusão foi de que ou os briozoários (e diatomáceasacompanhantes) não estavam em período ativo de crescimento ou estavam em fase de assentamento larval, pois antes do assentamento, a larva explora a superfície e pode ser positivamente influenciada pela textura, natureza química e pela presença de uma película bacteriana, o biofilme (Ryland, 1976). Após o assentamento ocorre o crescimento da colônia (McKinney & Jackson 1989), o que é menos provável, já que esse processo vem acontecendo por anos e no verão esses organismos exibem uma maior probabilidade de estarem crescendo sobre plásticos e matérias flutuantes. A maior quantidade de briozoários foi verificada no Costão Sul, sendo este

localizado na saída do estuário, supõe-se a ocorrência de um fundo com material sólido formado por detritos de natureza antropogênica veiculado pela poluição do Rio Camboriú e até mesmo em bóias nos molhes da Barra Sul, pois curiosamente, quatro dias após o mergulho houve uma considerável arribada na praia de Camboriú, com predomínio de briozoários (material não coletado). Ou seja, de fato o material deve encontrar-se em algum substrato formado em direção as correntes da saída do estuário, que não puderam ser visualizadas, pois talvez estejam mais afastados da praia.

Outra hipótese a ser testada futuramente com base nos resultados aqui obtidos é que a espécie de briozoário dominante, *E. bellula*, tem uma maior diversidade de adaptações e habitats, incluindo o crescimento sobre substrato inconsolidado. Apesar de esse tipo de habitat não ser comum no grupo, relatos recentes têm apontado para essa possibilidade. Gappa et al. (2010) registraram grandes arribadas da espécie *M. tubigera*, também citada para Balneário Camboriú, em extensas praias arenosas, totalmente desprovidas de fundos consolidados e também sem grandes aportes de poluição orgânica (Praia do Cassino, RS, Brasil e La Coronilla, Uruguay), porém com possíveis aportes nutricionais naturais, oriundos de ecossistemas úmidos costeiros. Sugere-se que a espécie invasora ocupou nichos virtualmente inexistentes nessa área, que são os fundos arenosos na zona nerítica proximal. Nesse caso, os organismos estariam crescendo soltos sobre o substrato. Essa situação pode explicar as ocorrências na Enseada de Camboriú, pois nos arrastos de fundo arenoso os organismos em questão foram registrados de forma mais conspícua do que em fundos consolidados. Em outras palavras a formação de manchas epibênticas de biomassa sobre fundos arenosos não seria oriunda de desprendimento de substratos duros e subsequente acumulação e transporte sobre substratos arenosos até a praia, mas possivelmente um habitat onde as colônias efetivamente ocupam e crescem. O porquê de outras praias da região não terem desenvolvido essas arribadas poderia estar associado ou a grande disponibilidade de matéria orgânica (detritos e bactérias) oriunda do rio Camboriú, ou aos impactos que a ocupação intensa da praia de Camboriú gerou sobre possíveis predadores e competidores desse nicho ou nichos similares. Ou seja, nessa enseada, a espécie invasora encontrou espaço e condições ambientais favoráveis para maior proliferação que em outras praias da região. Os principais controles ambientais da distribuição dos briozoários no ambiente são a presença de espaços disponíveis para o assentamento larval aliada a condições favoráveis de micro-habitats (Winston, 1982). Os habitats preferidos dos briozoários constituem-se

de locais sombreados ou crípticos (Winston, 2007). Porém, fatores ambientais também governam a distribuição dos briozoários e, em estuários, a salinidade é o fator físico que afeta diretamente a atividade dos organismos (Menon & Nair, 1972). Nas águas salobras a nutrição e a temperatura são fatores preponderantes no crescimento e maturação sexual dos briozoários (Jebram & Everitt, 1982).

Já para uma das espécies de diatomáceas envolvidas *B. biddulphiana*, existem relatos de tapetes em fundo rochoso crescendo em substrato consolidado associadas ao crescimento também excessivo de um coral duro *Porites californica* Verrill (Galland & Pennebaker, 2012). Isso pode explicar a inexistência de fenômenos de arribadas nesse local, pois o movimento de marés não poderia arrastá-los até a praia. Segundo Round et al. (1990), diatomáceas cêntricas podem ser encontradas em substratos bênticos e também no fitoplâncton, o que pode explicar a sua ampla distribuição por vezes em água de lastro. As condições do ambiente degradado também favorecem o crescimento desses organismos por se tratarem de espécies invasoras. Esses tapetes demonstram certa simbiose entre invertebrados e microalgas bênticas, assim, sugere-se que as diatomáceas usam esse tapete para crescerem, como uma forma de substrato.

A ocorrência desses fenômenos de arribadas quase exclusivamente em Balneário Camboriú, sem similar na região, chama a atenção para questões relacionadas a degradação ambiental. Porém, em 2013 foram relatadas pequenas arribadas das mesmas espécies verificadas em Balneário Camboriú na Praia da Armação em Florianópolis-SC (material coletado e analisado pelo LAFIC - UFSC). Esse material quando coletado, na maioria das vezes, apresenta muito detrito de origem antropogênica, que se apresenta enredado e aglomerado ao material arribado. Seriam esses os materiais flutuantes que os próprios briozoários usariam para crescer, ou se estariam esses organismos de alguma forma interferindo na retirada desse material do mar, são questões a serem analisadas. De qualquer forma, é fundamental a continuidade do monitoramento, pois essas novas ocorrências podem indicar novos eventos oportunistas de bioinvasão e a eventual combinação de fatores ambientais pode vir a promover a intensificação do fenômeno. Acompanhar esse fenômeno desde um momento de baixa intensidade até situações mais drásticas seria fundamental para compreender as causas das arribadas e possibilitar ações de manejo.

4.6. Experimentos ecofisiológicos

Com as alíquotas mantidas vivas foi possível o microisolamento das diatomáceas ao microscópio. Esse procedimento foi fundamental para a realização dos testes fisiológicos com as algas, os quais indicam características preferenciais das mesmas quanto a salinidade e nutrientes. Por sua vez esses dados permitem inferir sobre a origem e locais preferenciais de crescimento das algas, aspecto importante para compreender os fenômenos de arribadas como um todo.

Ambas as espécies foram isoladas, mas somente *A. antediluviana* cresceu satisfatoriamente em cultivo laboratorial. Desta forma, os experimentos fisiológicos foram conduzidos somente com essa espécie, que também mostrou ser a predominante nas arribadas. O isolamento efetivo foi realizado por capilar, porém, como as espécies são relativamente grandes em relação ao seu grupo, elas acabam servindo como suporte para outras diatomáceas menores e outros organismos, de maneira que somente o isolamento por capilar não foi o suficiente para a geração de cultivos unialgais. As algas pré-isoladas foram então lavadas diversas vezes em um filtro com malha de 20 μm para que estas “epífitas” fossem removidas das mesmas.

A diatomácea *A. antediluviana* apresentou crescimento lento em um período de 24 horas não havia ocorrido à duplicação desses organismos. Por esse motivo, optou-se pela contagem em T0 e T96. A formação de cadeias longas (característica natural da espécie) dificultou a contagem; assim foi possível obter-se uma fase de latência (Lag) e uma fase exponencial (Exp).

Na figura 9 podem-se observar os resultados dos testes realizados nos diferentes meios. Percebe-se nitidamente maiores taxas de crescimento para o meio IMR, nas salinidades 30 e 35.

A resposta da cepa ao meio F/2 (Guillard, 1975), um dos meios comumente utilizados para diatomáceas marinhas, foi variável. Além disso, as frústulas dessas algas apresentaram-se alteradas morfológicamente e com a subsequente formação de auxósporos. O tamanho da célula média tem declínios durante os ciclos de vida da maioria das diatomáceas. A forma muitas vezes muda também, podendo levar um longo tempo para que as células cheguem a sua menor dimensão - geralmente vários anos na natureza - mas mais cedo ou mais tarde há uma restituição abrupta de tamanho, em poucos dias, que envolvem a formação de uma célula especial, chamada auxósporo. Este comportamento é único entre os grandes grupos de algas (Mann, 1999). No meio F/2 pôde-se observar a presença de auxósporos, pois eles

podem surgir além do citado acima quando as condições ambientais não estão favoráveis. No meio F (Guillard 1975), que usa o dobro das concentrações da formulação do F/2, mas mantendo as proporções entre os nutrientes principais (N, P e Si), o crescimento foi menor e as células apresentaram anomalias a partir de 96 horas. No meio *Conway* (Walne, 1966), mais utilizado para cultivo em grande escala, as células não apresentaram um desenvolvimento contínuo, definindo em até 72 horas. Já no meio IMR as células apresentaram-se aparentemente mais saudáveis que no meio F/2 e sem formação de auxósporos, com taxas de crescimento similares ou levemente superiores que no meio F/2 (Figura 9).

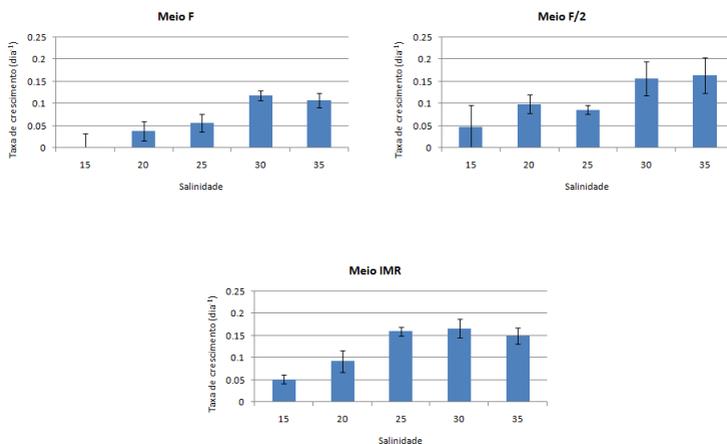


Figura 9. Taxas de crescimento da diatomácea *Amphitetras antediluviana* em diferentes meios e salinidades.

Como se pode observar na tabela 4, os meios F e F/2 apresentam baixa proporção de silício em relação ao meio IMR. Além disso, aqueles meios também apresentam uma maior concentração de nitrogênio em relação ao fósforo. As diferenças entre os meios F e F/2 estão na massa disponível de nutrientes e não na proporção entre os elementos. Com base nisso, parece que não é a quantidade de nutrientes que interfere no crescimento das diatomáceas testadas e sim a concentração relativa entre os elementos principais (N, P e Si). Maiores proporções de silício e de fósforo, como no meio IMR, parecem favorecer as espécies, sendo o nitrogênio menos importante, já que foi no meio IMR que elas

revelaram melhor crescimento. É interessante lembrar que o fósforo é o nutriente que governa a eutrofização, sendo que a razão N:P nos esgotos domésticos gira em torno de 5:1, justamente a razão verificada no meio IMR. Assim, embora não tenham sido gerados dados sobre nutrientes nas águas de fundo da enseada de Camboriú, pode-se esperar essas maiores concentrações relativas de fósforo devido ao grande aporte de esgotos domésticos, ainda que tratados, que são veiculados diariamente na área. Essa questão nutricional deve ser levada em consideração nas buscas por explicações sobre a proliferação das algas citadas no local.

Tabela 4. Concentrações molares de nutrientes (N, P e Si) nos diferentes meios de cultura utilizados e as suas proporções atômicas. M = molar.

Nutriente	Meio de Cultura		
	IMR	F	F/2
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	0,00412 M	0,024 M	0,012 M
Fosfato (P-PO ₄ ⁻³)	0,000775 M	0,00224 M	0,00112 M
Silicato (Si(OH) ₄)	0,012 M	0,001 M	0,005 M
Razão Si:N:P	15:5:1	4,5:11:1	4,5:11:1

4.7. Caracterização da biomassa

4.7.1. Lipídios totais

Dentre as diversas classes de microalgas que estudadas visando à obtenção dos PUFAs, segundo Kyle et al. (1986), as diatomáceas marinhas sempre são consideradas, uma vez que contêm abundância de lipídios e que os ácidos graxos da série ômega-3 são os principais componentes da fração lipídica. Segundo Brown (1991), os níveis de ácidos graxos altamente insaturados (EPA e DHA) são maiores nas diatomáceas que em algumas das outras classes de microalgas.

A composição química, especialmente em relação a ácidos graxos em briozoários já é bem menos conhecida. Alguns trabalhos relatam uma composição variável que está em dependência das dietas desses organismos que são também muito variadas, incluindo, bactérias, diversos grupos de microalgas e ainda detritos (Demidkova, 2010; Vysotskii & Svetashev, 1996). Os ácidos graxos saturados podem representar até 30% do total e entre os insaturados destacam os ômega-3 (PUFAs), provavelmente quando a dieta do briozoário apresenta maior importância de microalgas como as diatomáceas (Demidkova, 2010).

Na tabela 5 apresentam-se os resultados de uma das extrações de lipídios realizada no Laboratório de Ecologia de Microrganismos Marinhos da FURG, essa mesma extração foi utilizada para análises qualitativas de ácidos graxos (cromatografia gasosa).

Tabela 5. Percentuais de lipídios totais e proporção de diatomáceas e briozoários nas 5 amostras de material arribado analisadas.

Identificação da Amostra	Data de coleta	% lipídios totais (média de 2 extrações)	% diatomáceas	% briozoários
1 E	18/11/2011	3	N/D	N/D
5 A	05/01/2012	4,62	80	20
Brio C	01/02/2012	3,28	10	90
2 B	28/03/2012	3,07	90	10
4 D	29/06/2012	0,98	95	05

Houve uma tendência de maior percentual de lipídios nas amostras com maior proporção de diatomáceas, indicando que elas são as principais contribuintes para lipídios no material analisado. Entretanto, a amostra BRIO, com o maior percentual de briozoários, apresentou, em uma das extrações, os valores mais elevados entre as amostras. Vale apontar que nessa extração foram realizadas as análises qualitativas de ácidos graxos dos extratos lipídicos. Essa heterogeneidade entre alíquotas de amostras do mesmo lote era esperada tendo em vista a elevada heterogeneidade do material, mesmo depois de liofilizado, o que pode ter incutido erros nas determinações já que a massa de material utilizada nas extrações é pequena e os briozoários por apresentarem em partículas maiores, podem ter sido removidos da amostra no momento das pesagens, restando mais material de diatomáceas, já que as mesmas são menores e apresentam-se mais homogêneas. Outro fator que pode ter interferido é a presença de areia na amostra. Todas as amostras continham areia, no entanto, não foi possível determinar sua concentração para cada uma delas. As análises de perfil de ácidos graxos não demonstram uma grande diferença em seus perfis entre amostras (Tabela 7), o que pode fortalecer essa suposição.

Para se ter uma estimativa da disponibilidade de lipídeos a partir das arribadas, alguns cálculos simples foram realizados (Tabela 6). O percentual de lipídios para cada uma das extrações demonstra primeiramente em quilograma a quantidade de lipídios por tonelada,

esses dados são relacionados à biomassa que foi realizada a extração (amostra) de 0,2 gramas. A partir desses dados acoplado aos dados sobre umidade das amostras (biomassa úmida menos biomassa seca), foi possível identificar o percentual de umidade para cada amostra. Assim foi estimada a biomassa seca por dia de cada coleta e por mês, correspondente a data da coleta. Por fim a extrapolação de dados refere-se a quilograma (kg) de lipídios por dia da biomassa correspondente e por mês referente à biomassa total do mês.

Tabela 6. Extrapolação de dados para a média entre as extrações em relação à amostra de (0,2 g). Conteúdo em lipídios kg/ton, biomassa/dia e biomassa mês (dados Coneville), umidade das amostras em % (peso úmido – peso seco), estimativa da biomassa seca/dia e estimativa da biomassa seca/dia e estimativa da biomassa seca/mês. Lipídios/dia e lipídios/ mês.

Amostra	conteúdo (kg/t)	biomassa/dia	biomassa/mês	umidade (%)	biomassa seca(kg)/dia	biomassa seca(kg)/mês	lipídios (kg)/dia	lipídios (kg)/mês
1 E	30	30	130.5	75.3	7.41	101.01	222.3	3030
5 A	46.2	10.49	175.9	56.3	4.58	165.51	211.7	7646
Brio C	32.8	30	311.9	16.5	25.2	296.26	829.4	9717
2 B	30.7	3	461.3	77.2	0.70	450.20	21.7	13821
4 D	9.8	4	8.210	88.4	0.47	7.91	4.65	77.5

Para amostra de biomassa seca 5A (05/01/2012), por exemplo, a média entre duas extrações foi de 4,62% de lipídios totais, ou seja, 0,00924g de lipídios em 0,2 g de biomassa utilizada. Extrapolando, serão 46.200 g (46,2 kg) de lipídios em uma tonelada de biomassa seca. Pelos dados cedidos pela Coneville, nessa mesma data houve uma coleta de 10.490 kg, ou seja, aproximadamente 10,5 toneladas de biomassa arribada na praia. Como a umidade desse material, gerada quando das liofilizações para produção de biomassa seca, foi em média 56,3%, resulta para esse dia aproximadamente 4.584 kg (4,5 ton) de biomassa seca com cerca de 212 kg de lipídios. Para a soma do mês correspondente, onde se obteve cerca de 180 ton de biomassa úmida

(Tabela 5), teríamos cerca de 80 ton de biomassa seca e 3,7 ton de lipídios/mês.

Essa é uma biomassa típica coletada diariamente na praia de Balneário Camboriú-SC. Sabendo-se que para obter esse volume de biomassa em cultivo, seriam muito mais trabalhosos esses são dados a serem considerados para uma possível exploração comercial.

Não existem dados na bibliografia sobre o conteúdo lipídico dessas espécies microalgas, nem para os briozoários estudados. Também não há dados sobre o perfil de ácidos graxos. Dessa forma esse perfil foi analisado a fim de conhecer sua composição com intuito subsidiar a discussão da potencial utilização dessa biomassa, por exemplo, para a produção de bicomcombustíveis.

4.7.2 Ácidos graxos

Dentre as espécies conhecidas de microalgas que apresentam quantidades significativas de PUFA das famílias ômega-3 e ômega-6, encontram-se algumas pertencentes às Classes Chrysophyceae (*Isochrysis* spp. e *Pavlova lutheri*), Bacillariophyceae (*Phaeodactylum tricorutum*, *Thalassiosira* spp., *Odontella aurita*), Dinophyceae (*Cryptocodinium cohnii*), Rhodophyceae (*Porphyridium cruentum*) e em quantidade em algumas algas pertencentes à Chlorophyta (Yongmanitchai; Ward, 1989). No caso da biomassa arribada na enseada de Balneário Camboriú, as espécies envolvidas não têm seu perfil de ácidos graxos estudados e são espécies relativamente maiores que as mais comumente estudadas. No entanto os ácidos graxos de diatomáceas foram estudados mais extensivamente que os dos outros grupos de microalgas. Relatou-se que quase todas as diatomáceas continham uma grande proporção de ácidos graxos (14:0), mirístico, (16:0), palmítico, (16:1(n-7)), palmitolêico e (20:5 (n-3)), eicosapentaenóico (EPA) e os poliinsaturados foram constituintes menores (Oreutt e Patterson, 1975; Volkman et al., 1989). As características dos perfis de ácidos graxos de diatomáceas são facilmente distinguidas de outros grupos de microalgas. Os indicadores confiáveis de diatomáceas são: prevalência de 16:1, ácido palmitolêico (16:0, ácido palmítico), altos níveis de ácido eicosapentaenóico (EPA) e (14:0, ácido mirístico), e de pequenas quantidades de ácidos carboxílicos (CLs) e ácido docosaenóico (DHA). Nos dados abaixo percebemos a presença desses marcadores, todavia a biomassa analisada não é composta somente por diatomáceas.

Na tabela 7 são apresentados os dados médios dos valores obtidos das três repetições quanto à concentração dos ácidos graxos em

microgramas por miligrama ($\mu\text{g}/\text{mg}$) de ácidos graxos da biomassa liofilizada constituinte das arribadas (mistura de diatomáceas e briozoários).

Tabela 7. Perfil de ácidos graxos (%) em 4 amostras de arribadas analisadas. Média e desvio padrão (DP) entre 3 injeções cromatográficas.

Nome do éster	Fórmula geral	AMOSTRAS							
		5 A (05/01/2012)		BRIO (01/02/2012)		2B (28/03/2012)		4D (29/06/2012)	
		Média	D P	Média	D P	Média	D P	Média	D P
METIL DECANOATO	C10:0	0,00	0	0	0	0	0	0	0
METIL TETRADECANOATO	C14:0	26,10	0,2	20,8	0,2	35,9	0,31	42,5	0,7
METIL PENTADECANOATO	C15:0	1,50	0,2	1,4	0,07	1,5	0,04	0	0
METIL PALMITOLEATO	C16:1	12,50	0,2	6,52	0,14	4,6	0,06	8,65	1,1
METIL HEXADECANOATO	C16:0	53,60	1	48,52	0,61	52,4	0,32	45,5	0,38
METIL HEPTADECANOATO	C17:0	0,40	0,1	3,1	0,09	0,8	0,02	0	0
METIL LINOLEATO	C18:2	0,00	0	0	0	0	0	0	0
METIL OLEATO	C18:1c	0,00	0,1	2,77	0,09	0,8	0,02	0	0
METIL ELAIDATO	C18:1t	0,60	0,5	1,36	0,01	0	0	0	0
METIL OCTADECANOATO	C18:0	3,10	0,1	13,68	0,08	3,9	0,05	3,07	0,14
METIL EICOSATETRAENOICO	C20:4	0,10	0,1	0	0	0	0	0	0
METIL EICOSENÓICO	C20:1	0,10	0,1	0,49	0,01	0	0	0	0
METIL EICOSANÓICO	C20:0	0,00	0	0	0	0	0	0	0
METIL DOCOSANÓICO	C22:0	0,40	0	0,64	0,02	0	0	0	0
METIL TETRACOSANÓICO	C24:0	0,60	0	0,73	0,04	0	0	0	0
% SATURADOS		85,70		87,47		91,07		94,50	
% INSATURADOS		13,30		4,62		8,65		5,40	

Foram identificados 14 ácidos graxos (e/ou isômeros), tanto saturados quanto mono e poli-insaturados. Os ácidos graxos com maior representatividade nas arribadas foram o ácido hexadecaenóico (16:0, ácido palmítico) com 45,5 e 53,6%, o ácido tretadecanóico (14:0, ácido mirístico) com um teor variando entre 20,8 e 42,5% e o ácido octodecanóico (ácido esteárico 18:0) com 3,07 e 13,68 % do total de ácidos graxos saturados. Estes três compostos correspondem a aproximadamente 90 % do total de ácidos graxos identificados na biomassa das arribadas.

O ácido hexadecaenóico (16:1, ácido palmitoléico) com variação entre 4,6 e 12,5%, apresentou-se em maior concentração em relação aos outros ácidos graxos monoinsaturados (Figura 11). O ácido palmitoléico é responsável pelo metabolismo dos lipídios, podendo ajudar no equilíbrio dos níveis de colesterol HDL e LDL, reduzir a taxa de açúcar no sangue e favorecer a queda de gordura dos tecidos que envolvem o fígado e o coração (Wen e Chen, 2000) e, além disso, é utilizado em cosméticos de ação rejuvenescedora. Por sua vez, o ácido *cis* 9-octadecenoíco (ácido oléico 18:1) variou de 0,8 a 2,77%.

Não foram encontrados na literatura, até o momento, registros do perfil de ácidos graxos para estes táxons. Estes dados são importantes para os estudos de microalgas marinhas, uma vez que a biossíntese destas moléculas em diatomáceas pode estar relacionada com processos de adaptações fisiológicas, principalmente aqueles envolvendo fluidez de membrana quando as células são expostas a diferentes condições de temperatura e salinidade.

Os dados obtidos para a composição de ácidos graxos da biomassa de arribadas são semelhantes aos resultados de Lopes (2003), a qual relata a presença de 76,4% de ácido graxo saturado, sendo 52,8% de ácido palmítico e 23,6 de ácido mirístico, em uma diatomácea do gênero *Thalassiosira*. É possível, levando-se em conta dados da literatura, que os ácidos graxos insaturados, inclusive os PUFAs, detectados nas amostras de arribadas sejam originários das diatomáceas e os saturados, podem ter uma contribuição importante dos briozoários, porém essa é uma hipótese que deve ser testada. Isso pode ser feito cultivando-se esses organismos e analisando-se a biomassa pura separadamente.

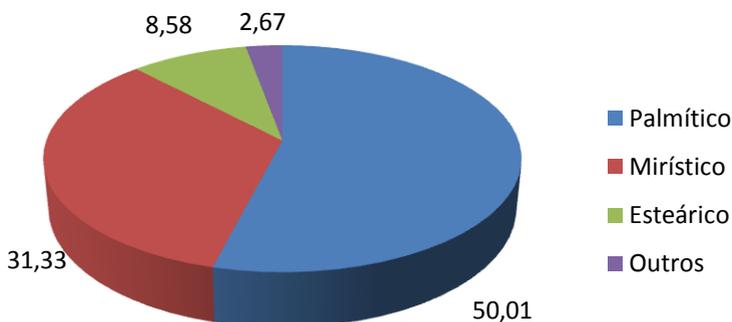


Figura 10. Composição dos ácidos graxos saturados produzidos pela biomassa das arribadas, médias entre as diferentes datas.

O material analisado, em todas as amostras, mostrou amplo predomínio de ácidos graxos (ésteres) saturados, com destaque para o ácido hexadecanóico (16:0, ácido palmítico) e para o ácido tetradecanóico (ácido mirístico). Uma maior proporção de saturados é mais interessante para a produção de biodiesel, uma vez que são mais estáveis em relação à oxidação (Srisvastava & Prasad, 2000). Para o caso de nutrição animal, os ácidos graxos mais desejáveis são os insaturados, principalmente os poliinsaturados (PUFAs). Desta forma, apesar dos baixos percentuais de ácidos graxos, qualitativamente, os mesmos são interessantes para a produção de biodiesel e a matéria arribada poderia eventualmente ser utilizada para esse fim.

4.7.3. Carbono orgânico total

Entre os macronutrientes biológicos, o carbono é considerado o mais importante, uma vez que constitui ao redor de 50% da biomassa microalgal, compondo todas as substâncias orgânicas sintetizadas pelas células. O CO₂ é a fonte de carbono preferencial para o crescimento fotossintético, autotrófico, das algas. O crescimento das microalgas comumente encontra-se limitado por este composto (Richmond, 2004).

Na tabela 8 são apresentados os resultados das determinações de carbono orgânico total das amostras de diferentes datas de coleta, com o percentual de diatomáceas e briozoários da amostra.

Tabela 8. Conteúdo em carbono orgânico total de amostras de arribadas (% para 2,0mg de amostra liofilizada). DP= desvio padrão; CV= coeficiente de variação; % diat.= percentual de diatomácea na amostra; % brio.= percentual de briozoários na amostra.

Amostra réplica	– Coleta	TOC (%)	Média (%)	s±	CV(%))	% diat.	% brio
5A – 1	05/01/2012	5,769					
5A – 2	05/01/2012	7,790	6,887	1,028	14,920	80	20
5A – 3	05/01/2012	7,102					
BRIO – 1	01/02/2012	8,553					
BRIO – 2	01/02/2012	10,007	9,481	0,806	8,504	10	90
BRIO – 3	01/02/2012	9,884					
2B – 1	28/03/2012	6,101					
2B – 2	28/03/2012	4,295	4,890	1,049	21,448	90	10
2B – 3	28/03/2012	4,274					
4D – 1	29/06/2012	5,269					
4D – 2	29/06/2012	5,542	5,966	0,980	16,433	95	05
4D – 3	29/06/2012	7,087					

A análise da variância (ANOVA) com teste posterior de Tukey revelou diferença significativa para o conteúdo de Carbono da amostra “BRIO” em relação às demais (Tabelas 9 e 10). Esta amostra apresenta maior proporção de briozoários, indicando a influência desses organismos no conteúdo orgânico do material. Por outro lado, a amostra 4D, que apresentou o segundo maior valor foi composta por apenas 5% de briozoários. Estas variações indicam a variabilidade das características dessas amostras de material arribado. De qualquer maneira, os valores percentuais carbono orgânico foram relativamente baixos, indicando a grande importância de material carbonático por parte dos briozoários e de sílica por parte das diatomáceas, podendo também estar expressando a influência da areia nas amostras.

Tabela 9. Análise da Variância para o conteúdo de Carbono analisado, com intervalo de 95% de confiança.

	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F	p
Entre os grupos	34,6219	3	11,5406	12,25	0,002324
Dentro dos grupos:	7,53405	8	0,941757		
Total:	42,1559	11			

Tabela 10. Teste de Tukey, com $p < 0,05$ para o conteúdo de carbono quantificado entre os tratamentos. Valores seguidos de * apresentam diferença significativa.

Amostra	5 ^a	BRIO	2B	4D
5 ^a		0.04531*	0.1308	0.6648
BRIO	4.63		0.00198*	0.009508*
2B	3.564	8.195		0.5559
4D	1.644	6.274	1.92	

4.7.4. Atividade antimicrobiana do extrato

Amostras de biomassa que foram submetidas a extração de possíveis princípios ativos e testadas contra microrganismos padrão mostraram baixa atividade antimicrobiana (Tabela 11). Entretanto, houve atividade antimicrobiana positiva para *Klebsiella pneumoniae*, uma importante bactéria patogênica geradora de doenças do aparelho respiratório. É um potencial a ser melhor investigado, testado e eventualmente explorado, após um estudo sobre quais moléculas podem ser as ativas.

Tabela 11. Análises realizadas no Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, para realização de testes de difusão em disco demonstrando atividade antimicrobiana contra 14 microorganismos.

Amostra	Espécies (organismos)	Atividade antimicrobiana
BRIO C	<i>Sporogenes perfringens</i> (ATCC 11437)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC 49619)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Enterobacter cloacae</i> (ATCC 13047)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212),	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	(+)
5A		(++)
BRIO C	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Shigella flexneri</i> (ATCC 12022)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	(-)
5A		(-)
BRIO C	<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)	(-)
5A		(-)

A espécie *Arboscuspis belulla* ocorrente nas arribadas apresentou atividade antimicrobiana elevada, apresentando expectativa em relação ao uso da biomassa, o crescente interesse e aumento de pesquisas na área de isolamento desses produtos naturais, considerando que o tempo de isolamento e mercado tem diminuído favoravelmente nos últimos anos, o conhecimento desses primeiros dados são de extrema importância e pesquisas com esse intuito devem continuar a ocorrer. Os

produtos naturais têm sido a maior fonte de inspiração para diversas áreas da química e da ciência de um modo geral. Usando, copiando ou modificando as moléculas sintetizadas pelos seres vivos, o homem tem obtido inovações para o seu benefício em diversas áreas e, entre elas, a produção de fármacos.

Dado que compostos de produtos naturais marinhos são em sua maior parte metabólitos secundários, o rendimento de produtos naturais é comumente da ordem de 10^{-4} a 10^{-6} % do peso úmido é necessário a coleta de toneladas de biomassa fresca que passam por um processo de tratamento, extração e purificação do composto para produzir quantidades suficientes para o uso clínico (Mendola, 2003). As arribadas que acontecem na enseada são uma fonte promissora, pois ocorrem em toneladas e a biomassa já chegou a atingir 100 toneladas em um único dia.

5. Conclusões

As arribadas de diatomáceas e briozoários ocorrentes na enseada de Camboriú (SC) são fenômenos recorrentes desencadeados por uma série de fatores. A biomassa é composta por diatomáceas e briozoários, e seu fenômeno de arribada na enseada parece ter aspecto irreversível. As florações de briozoários são mais frequentes em meses mais quentes, não deixando de ocorrer em outros meses, enquanto as diatomáceas ocorrem durante o ano todo, diminuindo em meses mais frios.

O material arribado foi coletado em vários pontos da enseada em áreas de fundo inconsolidado (arenoso), porém não se sabe se ocorrem nesses habitats ou se estavam em processo de arribamento, junto às algas. Esta constatação mostra que as arribadas são formadas gradual e continuamente, à medida que o material é direcionado para a praia junto ao fundo. Baseando-se no fato que a espécie de briozoário envolvida não cresce em fundo inconsolidado, existe uma suspeita de que esses organismos estejam crescendo em pontos mais longe da enseada e até sobre substratos móveis como lixo e cascos de embarcações. Provavelmente seja uma questão multifatorial e de grande complexidade, uma vez que a quantidade e diversidade de impactos que a região em estudo apresenta são muito elevadas. Ou seja, certamente não se trata de um evento natural, mas condicionado por alterações antropogênicas que possibilitaram seu sucesso após um fenômeno de bioinvasão.

A ausência das diatomáceas como dos briozoários em amostragens de coluna de água confirmou a característica bêntica do material. A progressão do material parece ser contínua, mas avança a medida que a maré se eleva. A deposição, por sua vez, é sempre verificada na maré baixa, período em que a empresa de limpeza urbana de Balneário Camboriú executa a coleta do material.

A quantidade de nutrientes não necessariamente interfere no crescimento das diatomáceas testadas (*Amphitetras antediluviana*) e sim a concentração relativa entre os elementos principais (N, P e Si). Maiores proporções de silício e de fósforo, como no meio IMR, parecem favorecer a espécie, sendo o nitrogênio menos importante. Essa questão nutricional deve ser levada em consideração nas buscas por explicações sobre a proliferação das algas citadas no local.

Em relação aos nutrientes, é possível que as diatomáceas bênticas estejam absorvendo nutrientes oriundos do sedimento (água intersticial), uma vez que deve haver um considerável fluxo de água intersticial rica

em nutrientes na praia de Camboriú, devido à elevada ocupação do solo e geração subsequente de detritos. Nesse sentido, o fluxo de nutrientes via água intersticial pode ser uma explicação parcial para o fenômeno das arribadas, uma vez que provavelmente em Balneário Camboriú as concentrações de nutrientes por essa via sejam maiores que em praias adjacentes, onde não se verificam as arribadas.

Porém, não ficou claro como as microalgas envolvidas crescem tão rapidamente, pois em cultivo de bancada, sendo esse com apenas uma espécie isolada, *A. antediluviana*, a espécie se desenvolve lentamente. De alguma maneira esses organismos exercem uma vantagem competitiva e tem grande potencial na remoção de nutrientes e carbono da enseada.

Apesar de não apresentarem altas concentrações de carbono na biomassa das microalgas envolvidas, o seu crescimento é excessivo. Trabalhos em relação à ecologia dessas algas necessitam ser realizados, testando os diversos padrões de seu ambiente natural.

Análises químicas da biomassa arribada mostraram baixas concentrações de lipídios, porém apresentaram em seu perfil de aproximadamente 80 % ácidos graxos saturados, interessantes para a produção de bicompostíveis. Apesar da baixa porcentagem de lipídios a biomassa é produzida em toneladas não sendo atualmente empregada para qualquer fim.

Em relação ao conteúdo de Carbono percebeu-se elevada variabilidade no material arribado, mas em geral com baixos percentuais carbono orgânico, indicando a grande importância de material carbonático por parte dos briozoários e de sílica por parte das diatomáceas, podendo também estar expressando a influência da areia nas amostras.

Em relação aos briozoários testes de extratos brutos contra 14 microrganismos apresentaram resultado positivo contra um deles. Sugere-se maior detalhamento da composição química desses materiais e novos testes de bioatividade como um potencial uso para o material arribado.

REFERÊNCIA

ABREU, J. G. N.; PEZZUTO, P. R.; RESGALLA JR., C.; MENEZES, J.T. & VINTÉM, G. 2003. Impacto ambiental e modificações texturais dos sedimentos provocadas pela alimentação artificial da praia de Balneário Camboriú (SC). In: Congresso Brasileiro da Associação Brasileira de Estudos do Quaternário, ABEQUA, 9. Recife, PE, 199 p.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Portarias de Qualidade, 2003. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/leg/legislacao.asp>>

ALONSO, D. L., GRIMA, E. M., SANCHEZ, P. J. A. et al., 1992. Isolation of clones of *Isochrysis galbana* rich in eicosapentaenoic acid. *Aquaculture* 102:363-371.

AMERICAN SOCIETY TESTING METHODS. D6751. USA, 2003.

ANDERSEN, R. 2005. *Algal Culturing Techniques*. Amsterdam: Elsevier Academic Press. 578p.

ANDERSON LWJ (2005) California's reaction to *Caulerpa taxifolia*: a model for invasive species rapid response. *Biological Invasions* 7: 1003-1016.

BADAN-DANGON A, KOBLINSKY CJ, BAUMGARTNER T (1985) Spring and summer in the Gulf of California: observations of surface thermal patterns. *Oceanologica Acta* 8(1): 13-22

BARNES, D.K.A. AND P. MILNER, 2005. Drifting plastic and its consequences for sessile organism dispersal in the Atlantic Ocean. *Marine Biology* 146:815-825.

BECKER, W. 2004. Microalgae in Human and Animal Nutrition. In: Richmond, A. [Ed.]. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford:Blackwell Science. pp. 312-351.

BLIGH E G & DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917, 1959.

BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; HU, W. P.; MUNRO, M. H.; NORTHCOTE, P. T.; PRINSEP, M. R.; *Marine Natural Products*. *Natural Product Reports*, 24: 31 – 86, 2007.

BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70: 313-321, 1999.

BRANYIKOVA, I.; MARSALKOVA, B.; DOUCHA, J.; BRANYIK, T.; BISOVA, K.; ZACHLEDER, V.; VITOVA, M. 2011. Microalgae—Novel Highly Efficient Starch Producers. *Biotechnology and Bioengineering*, 108 (4): 766-776.

BROWN MR (1991) The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J Exp Mar Biol Ecol* 145(1):79-99.

CAMILIOS NETO, D. & PINOTTI, M.H.P. 2004. Exopolissacarídeos de Cianobactérias. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina: 25(1): 43-52.

CARLTON, J. T., 1996. Biological Invasions and Cryptogenic Species. *Advances in Invasion Ecology*, 77 (6): 653-1655.

CECCHI Heloísa Máscia; *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. São Paulo; Editora Unicamp; 2007

CHEETHAM, A.H.; RUCKER, J.B. & CARVER, R.E. 1969. Wall structure and mineralogy of the cheilostome bryozoan *Metrarabdotos*. *Journal of Paleontology*, 43(1): 129-135.

CHISTI, Y.; *Biotechnol. Adv.* 2007, 25, 294.

CONGESTRI, R.; POLIZZANO, S. & ALBERTANO, P. 2007. Toxic Pseudo-nitzschia Populations from the Middle Tyrrhenian Sea. In: Evangelista, V.; Barsanti, L.; Gualtieri, P.; Frassanito,

A.M.; Passarelli, V. [Eds.]. *Algal Toxins: Nature, Occurrence, Effect and Detection*. Dordrecht: Springer. pp. 197-210.

COSTA-LOTUFO, L. V. Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: histórico e perspectivas. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 703-726, 2009.

DEMIDKOVA, D.A. 2010. The Composition of Fatty Acids and Aldehydes of the Marine Bryozoans *Berenicea meandrina* and *Dendrobeatia flustroides* (Bryozoa: Gymnolaemata). *Russian Journal of Marine Biology*, 36 (4): 300–304.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; DE CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG E.V. 14214. Alemanha, 2003.

EPPLEY, R. W., R. W. HOLMES, AND J. D. H. STRICKLAND. 1967. Sinking rates of marine phytoplankton measured with a fluorometer. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1.

FARRAPEIRA, C. M. R. 2010. Shallow water Cirripedia of the northeastern coast of Brazil: The impact of life history and invasion on biogeography. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 392: 210 – 219

FERNANDES, L. F., LAGOS, P. D., WOSIACK, A. C., PACHECO, C. V., DOMINGUES, L., ZENHDER-ALVES, L., & COQUEMALA, V. (2005). Comunidades fitoplanctônicas em ambientes lênticos. *ANDREOLI, CV, CARNEIRO, C. Gestão integrada de mananciais de abastecimento eutrofizados. Curitiba: SANEPAR, FINEP*, 305-366.

GALLAND, GR, AND SL PENNEBAKER. 2012. “A benthic diatom bloom in the Gulf of California, Mexico.” *BioInvasions Records* 1(1): 65–69.

http://www.reabic.net/journals/bir/2012/1/bir_2012_1_galland_penn_ebaker.pdf (May 6, 2013).

GAPPA, J.L.; CARRANZA, A.; GIANUCA, N.M.; SCARABINO, F. 2010. *Membraniporopsis tubigera*, an invasive bryozoan in sandy beaches of southern Brazil and Uruguay. *Biological Invasions*, 12:977–982.

GRIFFITHS RW, SCHLOESSER DW, LEACH JH, KOVALAK WP (1991) Distribution and dispersal of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in the Great Lakes region. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48(8): 1381-1388.

GHASSAN, T. A.; MOHAMAD I. AL-WIDYAN, B.; ALI O, A. Combustion performance and emissions of ethyl ester of a waste vegetable oil in a water-cooled furnace. *Appl. Thermal Eng.*, v.23, p.285-293, 2003.

GOERING, C. E.; FRY, B. Engine durability screening test of a diesel oil/ soy oil/ alcohol microemulsion fuel. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.61, n.10, p.1627-1631, 1984

GORDON, D.P.; RAMALHO, R.V. & TAYLOR, P.D. 2006. An unreported invasive bryozoan that can affect livelihoods – *Membraniporopsis tubigera* in New Zealand and Brazil. *Bulletin of Marine Science*, 78(2): 331-442.

GUILLARD, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates in “Culture of Marine Invertebrate Animals.” (eds: Smith W.L. and Chanley M.H.) Plenum Press, New York, USA. pp 26-60.

HARRIS, G.P. 1986. *Phytoplankton Ecology - Structure, Function and Fluctuation*.

IBAMA. Espécies exóticas invasoras: Situação brasileira/Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas. – Brasília: MMA, p. 24. 2006.

IBGE. 2011. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem Populacional. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/default.shtm>. Acesso em: julho de. 2011.

JHA & ZI-RONG, 2004. Biomedical Compounds from Marine organisms. "Marine Drugs." 123–146.

JEBRAM, D., EVERITT, B., 1982. New victorellids (Bryozoa, Ctenostomata) from North America: the use of parallel cultures in bryozoan taxonomy. *Biol. Bull.* 163, 172-187.

KAUANO, RAFAEL VITAME. 2011. 41 "Macrofauna bentônica, incrustante em substratos consolidados artificiais da Baía da Babitonga, Santa Catarina." Monografia apresentada ao curso de graduação em Ciências Biológicas, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas. Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

KITTELMANN, S.; HARDER, T.. Species-and site-specific bacterial communities associated with four encrusting bryozoans from the North Sea, Germany. *Journal of experimental marine biology and ecology*, v. 327, n. 2, p. 201-209, 2005.

KOBMEHL, S. O.; HEINRICH, H. Assesment of the use of biofuels in passenger vehicles. *Sustainable agricultural for food, energy and industry*, p.867-875, 1998.

KUROSHIMA, K.; BELLOTTO, V.; BARREIRO, M. & CHEVARRIA, G. 1996. Elaboração de um monitoramento da Qualidade de Água na Enseada de Camboriú-SC. In: III Simpósio Sobre Oceanografia - IOUSP. Resumos. p.304.

KYLE, D. J. et al. Microalgae as source of EPA-containing oils. *Journal of General Microbiology*, v. 6, p. 127-134, 1986.

LEE, R. E. 2005. *Phycology*. 4th. Ed. Cambridge University Press. 644 pp.

LIANG Ying, MAI Kang-sen e SUN Shi-chun. Total lipid and fatty acid composition of eight strains of marine diatoms* (Aquaculture Research lab., Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China) Chinese Journal of Oceanology and Limnology Vol. 18, No.4, P.345-349, 2000.

LOPES, D. C. Cultivo das Microalgas Marinhas *Thalassiosira* sp. E *Heterosigmaakashio* e Análise Química de Seus Polissacarídeos. Curitiba, 2003. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica e Biologia Molecular)- Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Received Jan. 15, 1999; revision accepted Dec. 12, 1999

LOTZE HK, LENIHAN HS, BORQUE BJ et al. (2006) Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastalseas. *Science* 312: 1806-1809.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. *Biores. Technol.*, v.70, n.1, p.1-15, 1999.

MACEDO, R. S.; RÖRIG, L. R.; URBAN, S. R.; CASTRO-SILVA, M. A.; PEREIRA FILHO, J. 2005. Avaliação do efeito das águas superficiais dos estuários dos rios Camboriú e Itajaí-Açu sobre o crescimento da diatomácea *Skeletonema costatum*. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, (9): 9 - 15.

MANN, D. G. (1999). The species concept in diatoms. *Phycologia*, 38(6), 437-495.

MARGEM, H.; ALBUQUERQUE, E.; DALTO, A. & MACHADO, M.C. 2003. Mycrophytobenthic and phytoplanktonic biomass of the surf zone of two exposed sandy beaches. *Journal of Coastal Research* 35: 402-407.

MEINESZ A, DE VAUGELAS J, HESSE B, MARI X (1993) Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *Journal of Applied Phycology* 5: 141-147.

MENDOLA, D., 2003: Aquaculture of three phyla of marine invertebrates to yield bioactive metabolites: process developments and economics. *Biomolecular Engineering* 20(4/6): 441-458

MENON, N.R., NAIR, N.B., 1972. On the nature of tolerance to salinity in two euryhaline intertidal bryozoans *Victorella pavid* Kent and *Electra crustulenta* Pallas. *J. Mar. Biol. Assoc. India* 17, 553-579.

MCKINNEY, F.K., JACKSON, J.B.C., 1989. *Studies in Paleobiology: Bryozoan Evolution*, Unwin Hyman, Boston

MILLNER H. W. 1948. The fatty acids of *Chlorella*. *J. Biochem.* 176: 813-817.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, Programa brasileiro de biocombustíveis: rede brasileira de biodiesel - PROBIODIESEL. Brasília, 2002. 26.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, Produção de Combustíveis Líquidos a Partir de Óleos Vegetais. Brasília: Secretaria de Tecnologia Industrial, 1985, 364p

MITTELBACH, M.; TRITTHART, P.; JUNEK, H. Diesel fuel derived from vegetable oils, II: emission tests using rape oil methyl ester. *Energy in Agriculture*, v.4, p.207-215, 1985.

NIENCHESKY LFH, WINDOM HL, MOORE WS, JAHNKE RA. Submarine groundwater discharge of nutrients to the ocean along a coastal lagoon barrier. Southern Brazil. *Mar Chem* 2007;106:546–61.

NIKULINA E. A.. 2010. “Three new genera of Electridae (Bryozoa): *Arbopercula* , *Osburnea* , and *Arbocuspis*.” *Schlesw-holst, Naturwiss V E R*: 25–28.

NYBAKKEN, J. W. *Marine Biology: An ecological approach*. New York: Harper & Row, 1982, p. 446.

- NYBAKKEN, J. W. *Marine Biology: An Ecological Approach*. 3ed. Harper Collins College Publisher, Nova York, 1993.p. 462.
- ODEBRECHT, C. & ABREU, P. C. 1997. Microorganismos em praias arenosas expostas: importância, aspectos metodológicos e estado da arte para o sul do Brasil. *Oecologia Brasiliensis* 3: 2-18
- ODEBRECHT, C.; SEGATTO, C. V. & FRESITAS, C. A. 1995. Surf-zone chlorophyll a variability at Cassino Beach, Southern Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 41: 81-90
- OLIVEIRA, T.M.N., TURECK, C.R., BASSFELD, J.C., TORRENS, B.M.O., FARIA, J.M., BRASIL, K., 2006. Integridade ambiental da Baía da Babitonga: características físico-químicas, microbiológicas e ecotoxicidade, in: Cremer, M.J., Morales, P.R.D., Oliveira, T.M.N (Eds.), *Diagnóstico Ambiental da Baía da Babitonga*. EditoraUniville, Joinville, pp. 20-80.
- OREUTT, D. M., PATTERSON, G. W., 1975. Sterol, fatty acid and elemental composition of diatoms grown in chemically defined media. *Comp. Biochem. Physiol. SOB*: 579- 583.
- PADEN CA, ABBOTT MR, WINANT CD (1991) Tidal and atmospheric forcing of the upper ocean in the Gulf of California: 1) sea surface temperature variability. *Journal of Geophysical Research* 96(C10): 18337-18359, <http://dx.doi.org/10.1029/91JC01597>
- PALAU, L. C.; RODRÍGUEZ, J. A.; LÓPEZ, M. O. A. Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases – espectrofotometría de masas”. In: VEGA, B.O.A.; VOLTOLINA, D. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*. 1. ed. La Paz: Centro de Investigaciones biológicas Del Noroeste (CIBNOR), 2007. p. 81 – 97.
- PETERSON, C. L.; AULD, D. L.; KORUS, R. A. Winter rape oil fuel for diesel engines: Recovery and utilization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.60, n.8, p.1579-1587, 1983.

PEZZUTO, P. R.; RESGALLA JR., C.; ABREU, J.G. N. & MENEZES, J. T. 2006. Environmental impacts of the nourishment of BalneárioCamboriú Beach, SC, Brazil. *Journal of Coastal Research*, SI 39 (Proceedings of the 8th International Coastal Symposium), 863 - 868. Itajaí, SC, Brazil.

PRYDE, E. H. Vegetables oils as diesel fuels. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.60, n.8, p.1557-1559, 1983

PYSEK, P., RICHARDSON, D.M., PERGL, J., JAROSIK, V., SIXTOVA, Z. & WEBER, E. "Geographical and taxonomic biases in invasion ecology". *Trends in Ecology and Evolution*. 23(5):237–244. 2008.

RAMALHO, L.V. & DIEHL, F.L. 2007b. Primeiro registro do briozoário *Membranioporopsis tubigera* (Osburn, 1940) (Cheilostomatida) em Balneário Camboriú, SC, Brasil. *Anais do XII Congresso Latino-americano de Ciências do Mar, Florianópolis*, 15-19 de abril. p.1-3.

REITAN, K. I., RAINUZZO, J. R., OLSEN, Y., 1994. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae. *J. Phycol.* 30: 972- 979.

RENAUD, S. M., PARRY, D. L., THINH, L. V. ET AL., 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsisoculata* for use in tropical aquaculture. *J. Appl. Phycol.* 3: 43- 53.

REZENDE, K.R.V. & BRANDINI, F.P. 1997. Variação sazonal do fitoplâncton da zona de arrebentação da praia de Pontal do Sul (Pontal do Paraná-Nerítica) 11: 49-62

RICHMOND, A.; *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*, Black Well Science: Oxford, 2004, p. 566.

RODRÍGUEZ, J. A., PALAU, L. C., LÓPEZ, M. O. A.. Extracción y cuantificación de lípidos. In: VEGA, B.O.A.; VOLTOLINA, D.. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa*

microalgal. 1. ed. La Paz: Centro de Investigaciones biológicas Del Noroeste (CIBNOR), 2007. p. 47 – 57.

RÖRIG, L. R. & GARCIA, V. M. T. 2003. Accumulations of the surf diatom *Asterionellopsis glacialis*(CASTRACANE) ROUND in Cassino Beach, Southern Brazil, and its relationship with environmental factors. Journal of Coastal Research. SI 35, p.167 – 177.

RÖRIG, L.R. Acumulações da Diatomácea *Asterionellopsis glacialis* e sua relação com variáveis ambientais na praia do Cassino, Rio Grande, RS. Dissertação - Fundação Universidade do Rio Grande. Rio Grande, 1997.

ROUND FE, Crawford RM, Mann DG (1990) The diatoms. Biology and Morphology of the genera. University Press, Cambridge, UK, 758 pp

ROUND, F. E.; CRAWFORD, R. M.; MANN, D. G. In: The Diatoms., p. 1-125, 1990.

RUIZ GM, CARLTON JT, GROSHOLZ ED, HINES AH (1997) Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences. American Zoologist 37: 621-632

RUIZ GM, CARLTON JT, GROSHOLZ ED, HINES AH (1997) Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences. American Zoologist 37: 621-632

RUIZ GM, FOTONOFF PW, CARLTON JT, WONHAM MJ, HINES AH (2000) Invasion of coastal marine communities in North America: apparent patterns, processes, and biases. Annual Review of Ecology and Systematics 31: 481-531, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.481>

RYLAND, J.S. 1976. Physiology and ecology of marine bryozoans. Adv. Mar. Biol. 14:285-443.

SHAY, E. G. Diesel fuel from vegetable oils: status and opportunities. *Biomass and Bioenergy*, v.4, p.227-242, 1993.

SRIVASTAVA A. AND R. PRASAD, 2000. Triglycerides-based diesel fuels. *Renew. Sustainable Energy Rev.*, 4: 111-133.

SOURNIA, A. 1978. *Phytoplankton Manual*. UNESCO. Monographs on Oceanographic methodology. No. 6. 337 pp.

STOURNAS, S.; LOIS, E.; SERDARI, A. Effects of fatty acid derivatives on the ignition quality and cold flow of diesel fuel. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.72, n.4, p.436- 437, 1995.

SZYMCZYCHA B., VOGLER S., PEMPKOWIAK J., 2012, Nutrient fluxes via submarine ground water discharge to the Bay of Puck, Southern Baltic. *Sci. Total Environ.*, 438, 86–93.

TALBOT, M. M. B.; BATE, G. C.; CAMPBELL, E. E. A review of the ecology of surfzone diatoms, with special reference to *Anaulus australis*. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. 1990, v. 28, p. 155-175.

TEIXEIRA, V. L. Produtos naturais marinhos. In: PEREIRA, R. G.; SOARES GOMES, A. (orgs.) *Biologia Marinha*. Rio de Janeiro: Interciência, 2002. p. 249-279.

TESHIMA, S., YAMASAKI, S., KANAZAWA, A. ET AL. 1983. Effects of water temperature and salinity on eicosapentaenoic acid level of marine *Chlorella*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 49: 805.

THOMPSON, P. A., HARRISON, P. J., WHYTE, J. N. C., 1990. Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton. *J. Phycol.* 26: 278- 288.

TIFFANY, MARY A, AND CARINA B LANGE. 2002. "Diatoms provide attachment sites for other diatoms: a natural history of epiphytism from southern California." *Phycologia* 41(2): 116–124.

UNDERWOOD G J C, KROMKAMP J (1999) Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. In: *Advances in Ecological Research* 29:93-153.

USDOE. 2010. National Algal Biofuels Technology Roadmap. U.S. Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Biomass Program. 124p.

VIEIRA L M , MIGOTTO AE, WINSTON JE, 2008. Synopsis and annotated checklist of recent marine bryozoa from Brazil. *Zootaxa* 1810:1–39

VOLKMAN, J. K., JEFFREY, S. W., NICHOLS, P. D. ET AL., 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 128:219-240.

VYSOTSKII, M.V. AND SVETASHEV, V.I. 1996. Fatty Acids of a Bryozoan Flustra sp., *Russian Journal of Marine Biology*, 22 (1): 55 - 56.

WALNE, P. R. Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. *Fishery Investigations*, London, v.25, n.4, p.1-53, 1966.

WATSON J, ESTES JA (2011) Stability, resilience, and phase shifts in rocky subtidal communities along the west coast of Vancouver Island, Canada. *Ecological Monographs* 81(2): 215-239.

WEN, Z. Y.; CHEN, F.; *J. Indust. Microbiol. Biotechnol.* 2000, 25, 218.

WILLIS, W. M.; LENCKI, R. E.; MARANGONI, A. G.; CRIT. *Rev. Food Sci.* 1998, 38, 639.

WINSTON, J.E., 1982. Marine bryozoans (Ectoprocta) of the Indian River Area (Florida). *Bull. American Mus. Nat. Hist.* 173, 99-176.

WINSTON, J.E., 2007. Diversity and distribution of bryozoans in the Pelican Cays, Belize, Central America. *Atoll Res. Bull.* 546, 1-24.

YAO, C.; AI, J.; CAO, X.; XUE, S. & ZHANG, W. 2012. Enhancing starch production of a marine green microalga *Tetraselmis subcordiformis* through nutrient limitation. *Bioresource Technology*, 118, 438–444.

YING, LIANG, MAI KANG-SEN, AND SUN SHI-CHUN. "Total lipid and fatty acid composition of eight strains of marine diatoms." *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 18.4 (2000): 345-349.

YONGNMNITCHAI, W, WARD, O. P., 1989. 0- 3 Fatty acid. Alternative sources of production. *Process Biochem.* 8: 117 - 125.

YONGMANITCHAI, W., WARD, O. P., 1991. Growth and omega-3 fatty acid production by *Phaeoerythron tricornutum* under different culture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 419-425.