



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

GIOVANA DA ROCHA RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA TINTURA
BOTÂNICA PRODUZIDA PELA COMUNIDADE TRADICIONAL CAIÇARA DE
MARTIM DE SÁ - PARATY, PARA REDES DE CERCO FLUTUANTE**

NITERÓI / RJ

2025

GIOVANA DA ROCHA RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA TINTURA
BOTÂNICA PRODUZIDA PELA COMUNIDADE TRADICIONAL CAIÇARA DE
MARTIM DE SÁ - PARATY, PARA REDES DE CERCO FLUTUANTE**

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

Orientador: Prof. Dr. Renato Crespo
Pereira

Coorientador: Prof. Dr. Felipe Vargas
Ribeiro

NITERÓI / RJ

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Biblioteca do IEAPM

R696c Rodrigues, Giovana da Rocha

Caracterização e potencial biotecnológico de uma tintura botânica produzida pela comunidade tradicional Caiçara de Martim de Sá - Paraty, para redes de cerco flutuante / Giovana da Rocha Rodrigues.-- Arraial do Cabo, RJ: IEAPM, 2025.

83 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Renato Crespo Pereira

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Marinha) - Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira e Universidade Federal Fluminense - IEAPM/UFF, Programa Associado de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha, Arraial do Cabo, 2025.

1. Tinta natural 2. Biofilmes marinho 3. Biotecnologia marinha
I. Pereira, Renato Crespo II. Instituto de Estudos do Mar
Almirante Paulo Moreira III. Universidade Federal Fluminense
IV. Título

CDD: Ed. 22 -- 660.6

GIOVANA DA ROCHA RODRIGUES

CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA TINTURA BOTÂNICA PRODUZIDA PELA COMUNIDADE TRADICIONAL CAIÇARA DE MARTIM DE SÁ - PARATY, PARA REDES DE CERCO FLUTUANTE

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

COMISSÃO JULGADORA:



Documento assinado digitalmente
MARCO ANTONIO DA SILVA MELLO
Data: 08/06/2026 15:40:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marco Antonio da Silva Mello
Universidade Federal Fluminense

Profa. Dra. Daniela Bueno Sudatti
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Abílio Soares Gomes
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Renato Crespo Pereira
Universidade Federal Fluminense
Professor Orientador – Presidente da Banca Examinadora

Niterói, 27 Junho de 2025.

DEDICATÓRIA

À toda comunidade caiçara de Martim de Sá e região, cuja sabedoria, tradição e cuidado com a natureza foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos antepassados que, com profundo respeito e cuidado, preservaram os saberes tradicionais e os recursos naturais que sustentam a identidade e a vida dessa região tão rica e singular.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fomento à pesquisa e pela bolsa concedida, que me permitiu dedicar-me integralmente ao mestrado.

Ao Paulo Henrique Remédios e a toda sua família, moradores de Martim de Sá, pela acolhida calorosa, confiança e compartilhamento de saberes que foram a base deste trabalho. Sem vocês, nada disso teria sido possível. Que este trabalho honre, ainda que em parte, a generosidade com que fui recebida.

À minha família, por todo o amor e incentivo ao longo da minha trajetória acadêmica. À minha mãe, meu pai, minha irmã e minha madrastra, que sempre acreditaram nos meus sonhos e me apoiaram incondicionalmente em cada passo do caminho.

Ao meu noivo, João Pedro Oliveira, por ser meu companheiro em todos os sentidos: por ter abraçado essa jornada comigo desde o início, por topar mudar de cidade para que eu pudesse realizar o mestrado e por estar presente inclusive nas etapas práticas da pesquisa. Sua presença foi essencial em todos os momentos.

Agradeço imensamente à Juliana Ferrari, que foi a ponte inicial com a comunidade de Martim de Sá e sempre se mostrou disposta a ajudar no que fosse necessário. Estendo também minha gratidão aos colegas de laboratório — Júlia Carneiro, Ágatha Pinheiro, Bruna Saliba, Carlos, Marcus Guimarães e André Canellas — pela companhia, apoio e incentivo.

Agradeço ao coorientador Felipe Vargas Ribeiro, cuja orientação prática e apoio constante foram fundamentais para a realização das etapas mais desafiadoras deste trabalho. Sua disponibilidade e olhar técnico fizeram toda a diferença no desenvolvimento da pesquisa.

É um agradecimento muito especial ao meu orientador, Prof. Dr. Renato Crespo. Desde o início, quando aceitou me orientar mesmo sem me conhecer pessoalmente, morando em outra cidade e com pouquíssimos dias para elaborar um projeto — sendo um desses dias o seu próprio aniversário — demonstrou uma generosidade, dedicação e sensibilidade que levarei para sempre comigo. Ao longo de toda a trajetória do mestrado, ele foi mais do que um orientador: foi um verdadeiro exemplo de cientista, professor e ser humano. Sua escuta atenta, sua paciência e sua maneira ética e sensível de conduzir o trabalho me inspiraram profundamente.

Desejo, sinceramente, um dia conseguir ser ao menos um pouquinho do que ele é hoje — em competência, humanidade e compromisso com a ciência. Obrigada por acreditar em mim e por ter feito parte dessa etapa tão significativa da minha vida acadêmica e pessoal.

Só há um tempo: o agora. Tempo de chegar, tempo de ir embora. Quem vive seu tempo, faz história”

- Daniel Munduruku.

RESUMO

*A bioincrustação marinha representa um dos principais desafios às atividades costeiras, especialmente na pesca artesanal, devido ao acúmulo de organismos sobre estruturas submersas. Este trabalho avaliou o potencial biotecnológico de uma tinta tradicional produzida por pescadores caiçaras de Martim de Sá (Paraty, RJ), feita a partir da casca de uma árvore nativa, quanto à sua influência sobre a fixação de organismos e modulação de comunidades microbianas em substratos marinhos. A tinta foi reproduzida em laboratório com base em relatos dos pescadores e aplicada em cordas de polipropileno submersas na Baía de Guanabara por até 21 dias, além de testes laboratoriais com mexilhões *Perna perna*. A caracterização química da tinta por CLUE-EMAR (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência associada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução) revelou a presença de flavonoides (catequina, epicatequina e afzelechina) e ácidos orgânicos (cítrico e subérico), compostos reconhecidos por suas propriedades bioativas. Os resultados apontam que a tinta não possui efeito anti-incrustante clássico, mas pode atuar como moduladora seletiva de comunidades bacterianas e influenciar as etapas subsequentes de estabelecimento de incrustantes. A estrutura das comunidades bacterianas foi avaliada por sequenciamento do gene 16S rRNA e revelou que a tinta não apenas modifica a superfície fisicamente, mas também influencia biologicamente os organismos, potencialmente via biofilmes formados ou compostos bioativos liberados. As limitações incluem a não identificação botânica da planta utilizada e o uso de uma formulação laboratorial baseada em saber naturalístico, não testada em sua forma original no ambiente dos pescadores. O estudo evidencia o potencial de integração entre saberes tradicionais e ciência aplicada na busca por soluções sustentáveis para a bioincrustação.*

Palavras-chave: Tinta natural; biofilmes marinhos; biotecnologia marinha; biocompostos naturais; comunidades costeiras; conhecimento ecológico local.

ABSTRACT

Marine biofouling represents one of the main challenges to coastal activities, especially in artisanal fishing, due to the accumulation of organisms on submerged structures. This study evaluated the biotechnological potential of a traditional dye produced by caiçara fishers from Martim de Sá (Paraty, RJ), made from the bark of a native tree, regarding its influence on organism settlement and the modulation of microbial communities on marine substrates. The dye was reproduced in the laboratory based on fishers' accounts and applied to polypropylene ropes submerged in Guanabara Bay for up to 21 days, in addition to laboratory tests with Perna perna mussels. Chemical characterization of the dye using UHPLC-HRMS (Ultra-High Performance Liquid Chromatography coupled with High-Resolution Mass Spectrometry) revealed the presence of flavonoids (catechin, epicatechin, and afzelechin) and organic acids (citric and suberic), compounds known for their bioactive properties. The results indicate that the dye does not have a classical anti-fouling effect but may act as a selective modulator of bacterial communities and influence the subsequent stages of fouling establishment. The structure of bacterial communities was assessed by 16S rRNA gene sequencing and revealed that the dye not only physically alters the surface but also biologically influences organisms, potentially through biofilms formed or bioactive compounds released. Limitations include the lack of botanical identification of the plant used and the application of a laboratory-based formulation derived from naturalistic knowledge, which was not tested in its original form in the fishers' environment. This study highlights the potential for integrating traditional knowledge and applied science in the search for sustainable solutions to marine biofouling.

Keywords: Natural dye; marine biofilms; marine biotechnology; natural bioactive compounds; coastal communities; local ecological knowledge.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da rede de cerco flutuante	22
Figura 2 - Localização de Martim de Sá, Paraty, Rio de Janeiro, Brasil. - 23.302288248876106, -44.55459539782374.....	29
Figura 3 - Imagem da Praia de Martim de Sá, Paraty, RJ.	30
Figura 4 - Imagem do Navio Ciências do Mar III.	31
Figura 5 - Coleta do material: A. Retirada da casca da árvore indicada. B Cascas coletadas sendo levadas para processamento. C. Maceração do material.....	32
Figura 6 – Imagem do preparo da tinta com auxílio de ebulidor.	33
Figura 7 - Coleta de mexilhões. A) Imagem da praia de Itaipu - Niterói, RJ. 2024. B) Raspagem do substrato para retirada dos mexilhões. C) Transporte dos mexilhões.	35
Figura 8 - Mexilhões demonstrando comportamento exploratório. Setas indicando a emissão do pé do mexilhão.....	36
Figura 9 - Bioensaio de mexilhões montado. *Placas de Petri distribuídas aleatoriamente sobre a bancada.	37
Figura 10 – Imagem de mexilhão com bisso fixado em outro indivíduo da espécie.	38
Figura 11 – Imagem das cordas sendo tratadas com a tinta (A) e controle com água destilada (B).	39
Figura 12 – Imagem da unidade estrutural experimental no bioensaio de campo.	40
Figura 13 - Disposição do experimento no navio Ciências do Mar III.....	41
Figura 14 - Coleta semanal das amostras.....	43
Figura 15 - Fixação de bissos por Perna perna em diferentes combinações de tratamento e substrato. Boxplots representando a quantidade de bissos fixados após 24 horas de exposição aos tratamentos controle, tinta diluída e tinta integral, considerando os substratos filtro, mexilhão e placa. As letras indicam agrupamentos estatísticos conforme o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$), onde grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas.....	51
Figura 16 - Distribuição da quantificação de DNA ao longo do tempo para os grupos controle (C) e tratamento (T).	55
Figura 17 - Variação do índice Chao1 nos grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos dias de submersão. * Boxplots representando a estimativa de riqueza de espécies (Chao1) nas amostras coletadas nos dias 1, 7, 14 e 21, para os grupos controle (verde) e tratamento (laranja).	56
Figura 18 - Variação da riqueza observada (Observed) nos grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos tempos de submersão. * Boxplots representando a riqueza bruta de táxons (índice Observed) nos dias 1, 7, 14 e 21, para os grupos controle (verde) e tratamento (laranja).	57
Figura 19 - Variação do índice de diversidade de Shannon nos grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos tempos de submersão. * Boxplots	

representando a diversidade de Shannon nos dias 1, 7, 14 e 21 para os grupos controle (verde) e tratamento (laranja).	58
Figura 20 - Variação do turnover (TURN) entre tempos experimentais nos grupos controle (C) e tratamento (T). * Boxplots representando os valores de turnover (TURN), que indicam a substituição de táxons entre dois tempos.	62
Figura 21 - Variação do índice de nestedness (NEST) entre os intervalos de tempo nos grupos controle (C) e tratamento (T). * Boxplots representando os valores de nestedness (NEST), avaliados entre dois tempos.	63
Figura 22 - Dissimilaridade total (DIS) entre tempos experimentais nos grupos controle (C) e tratamento (T). * Boxplots representando o índice de dissimilaridade total (DIS), avaliados entre dois tempos.	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Períodos de ebulição, totalizando 4h.....	34
Tabela 2 - Número de bissos emitidos por mexilhões (Perna perna) após 24 horas de exposição aos diferentes tratamentos. Distribuição do número de bissos fixados por Perna perna nas diferentes superfícies experimentais: placa de Petri, corpo de outro mexilhão e filtro de papel, sob três condições distintas — controle (sem tinta), tinta natural integral e tinta natural diluída. Os valores representam a contagem total e sua subdivisão por superfície em cada unidade experimental.....	48
Tabela 3 - Análise de variância (ANOVA) para a fixação de bissos por <u>Perna perna</u> . *Valores de graus de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM).	49
Tabela 4 - Comparação das médias de fixação de bissos por Perna perna entre combinações de tratamento e substrato, com teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). *Médias estimadas de bissos fixados, erro padrão (EP), limite inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança (95%), graus de liberdade (GL) e agrupamento estatístico conforme o teste de Tukey. Grupos com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas.....	50
Tabela 5 - Quantificação de DNA (ng/ μ l) obtida por Qubit ao longo do experimento, de acordo com o tratamento e o tempo de exposição. *Valores de concentração de DNA extraído das amostras coletadas nos dias 1, 7, 14 e 21, para os tratamentos com tinta natural e controle. As análises foram realizadas utilizando o fluorômetro Qubit, expressas em ng/ μ l.....	51
Tabela 6 - Análise de variância (ANOVA) para os valores de quantificação de DNA ao longo do tempo e entre tratamentos. * Valores de graus de liberdade (GL), soma dos desvios, desvios residuais, valor de F e p-valor para os fatores “tempo”, “tratamento” e sua interação.	53
Tabela 7 - Comparação das médias de quantificação de DNA (ng/ μ l) entre tratamentos ao longo do tempo com teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). * LI e LS correspondem aos limites inferior e superior do intervalo de confiança (95%). Letras diferentes indicam grupos estatisticamente distintos segundo o teste de Tukey.....	53
Tabela 8 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) para a quantificação de DNA ao longo do tempo e entre tratamentos. *Estimativas dos coeficientes do modelo GLM com seus respectivos erros padrão (EP), valores de t e p-valores para os efeitos principais (tempo e tratamento) e suas interações. O intercepto representa o valor médio da quantificação de DNA no grupo controle no tempo 1 dia.....	54
Tabela 9 - Teste de normalidade (Shapiro–Wilk) aplicado aos índices de diversidade alpha. *Valores da estatística W e respectivos p-valores do teste de Shapiro–Wilk para os índices de diversidade Observed, Chao1 e Shannon....	59
Tabela 10 - Teste de Kruskal–Wallis para análise da variação temporal dos índices de diversidade alfa em cada grupo experimental. * Valores de p para os	

índices Observed, Chao1 e Shannon em cada grupo (controle –C e tratamento – T). Asteriscos (*) indicam significância ($p < 0,05$), que justificou a realização da análise post-hoc de Dunn.....	60
Tabela 11 - Comparações múltiplas entre tempos pelo teste de Dunn para os índices de diversidade alfa nos grupos controle e tratamento. * Comparações entre tempos de exposição para os índices Observed, Chao1 e Shannon nos grupos controle (C) e tratamento (T), conforme identificado como significativo pelo teste de Kruskal–Wallis.....	60
Tabela 12 - Resultados da análise de variância permutacional (PERMANOVA) aplicada à matriz de distâncias de Bray–Curtis. *Valores de pseudo-F e p-valor para os efeitos do fator tratamento (controle × tinta) e do par de tempos (intervalos de submersão).....	66
Tabela 13 - Compostos identificados na composição química da tinta natural utilizada no tratamento das cordas, segundo análise por CLUE-EMAR.	66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 BIOINCRUSTAÇÃO MARINHA: UM FENÔMENO COMPLEXO E DE ALTO IMPACTO.....	16
1.1.1 DEFINIÇÃO.....	16
1.1.2 ETAPAS.....	16
1.1.3 IMPACTOS NEGATIVOS DA BIOINCRUSTAÇÃO.....	17
1.1.4 ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DA BIOINCRUSTAÇÃO	18
1.2 A PESCA ARTESANAL E SUA IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA E CULTURAL	19
1.2.1 REDE DE CERCO FLUTUANTE	22
1.3 O CONHECIMENTO ECOLÓGICO TRADICIONAL (CET) E SUA RELEVÂNCIA	22
1.4 A TINTURA CAIÇARA DE MARTIM DE SÁ PARA REDES DE CERCO FLUTUANTE.....	24
1.4.1 MARTIM DE SÁ: CONTEXTO GEOGRÁFICO E SOCIOAMBIENTAL	24
1.4.2 A TINTURA TRADICIONAL: PREPARO, USO E PERCEPÇÕES DOS PESCADORES	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 SOLICITAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO E CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO.....	28
2.2 ÁREA DE ESTUDO	28
2.3 COLETA DO MATERIAL	31
2.4 PREPARO DA TINTA.....	33
2.5 TESTES DE FIXAÇÃO DE BISSOS COM MEXILHÃO (<i>Perna perna</i>) ...	34
2.5.1 Desenho experimental	34
2.5.2 PREPARO DO SUBSTRATO	35
2.5.3 COLETA DOS MEXILHÕES.....	35
2.5.4 ACLIMATAÇÃO E SELEÇÃO DOS ORGANISMOS.....	35
2.5.5 EXPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO.....	36
2.6 ENSAIO DE CAMPO: CORDAS NO NAVIO CIÊNCIAS DO MAR III.....	38
2.6.1 PREPARO DAS CORDAS	38
2.6.2 PREPARO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS	39

2.6.3 MONTAGEM DO ENSAIO.....	40
2.6.4 MONITORAMENTO E COLETA DE AMOSTRAS	41
2.7 CARCTERIZAÇÃO DO MICRIOBIOMA FÚNGICO E BACTERIANO.....	43
2.7.1 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO	43
2.7.2 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DAS COMUNIDADES	44
2.7.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA E PRODUÇÃO DE GRÁFICOS	44
2.8 ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO	45
2.8.1 PREPARO DO MATERIAL	45
2.8.2 ANÁLISE POR CLUE-EMAR.....	46
2.8.3 PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE NO GNPS	47
3 RESULTADOS.....	48
3.1 TESTES DE FIXAÇÃO DE BISSOS COM MEXILHÃO (<i>Perna perna</i>) ...	48
3.2 QUANTIFICAÇÃO DE DNA.....	51
3.3 CARCTERIZAÇÃO DO MICRIOBIOMA FÚNGICO E BACTERIANO.....	55
3.3.1 DIVERSIDADE ALFA	55
3.3.2 DIVERSIDADE BETA.....	60
3.4 ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO	66
4 DISCUSSÃO	68
5 CONCLUSÃO	71
Referências	73

1 INTRODUÇÃO

1.1 BIOINCRUSTAÇÃO MARINHA: UM FENÔMENO COMPLEXO E DE ALTO IMPACTO

1.1.1 DEFINIÇÃO

A Organização Marítima Internacional (IMO) define bioincrustação, em sua resolução MEPC.378(80), como: "o acúmulo de organismos aquáticos, como microrganismos, plantas e animais, em superfícies e estruturas imersas ou expostas ao ambiente aquático", podendo incluir patógenos" (*International Maritime Organization*, 2024).

Segundo esta mesma resolução, a bioincrustação pode ser subdividida em: microincrustação, quando organismos microscópicos, como bactérias, fungos, microalgas e protozoários, colonizam superfícies submersas, resultando na formação de um biofilme ou camada viscosa; e macroincrustação, que se refere à bioincrustação visível a olho nu, causada pelo acúmulo de organismos aquáticos maiores, como cracas, algas, mexilhões, briozoários e ascídias, em superfícies submersas (*International Maritime Organization*, 2024).

1.1.2 ETAPAS

Wahl (1989) definiu um modelo de sequência de incrustação composto de quatro etapas que representam uma sequência temporal sobreposta:

- Condicionamento bioquímico: Em questão de segundos, moléculas orgânicas, como proteínas e glicoproteínas, aderem ao substrato, alterando suas propriedades físico-químicas e criando um ambiente propício para a colonização microbiana. A interação entre células microbianas e a superfície, sob condições específicas de nutrientes e físico-química, é crucial para o estabelecimento e progressão da bioincrustação (Qian *et al.*, 2007).
- Colonização bacteriana: O condicionamento bioquímico do substrato facilita a adesão bacteriana. Os primeiros microrganismos a colonizar essa superfície são, em geral, bactérias com formato de bastonete (bacilos), frequentemente flageladas, e adaptadas a condições de baixa disponibilidade de nutrientes. A maioria das bactérias em

ambientes naturais, inclusive marinhos, vive em biofilmes, que são comunidades microbianas complexas aderidas a superfícies (Nandakumar; Yano, 2003, 2003).

- Colonização por eucariontes unicelulares: Esta colonização compreende a chegada de leveduras, protozoários e diatomáceas. Esta fase geralmente começa vários dias após a imersão (O'Neill; Ilcox, 1971).
- Colonização por eucariontes multicelulares: Após a instalação de uma comunidade microbiana complexa e tridimensional, o processo de bioincrustação avança para a fase de colonização por organismos multicelulares. A velocidade deste estágio é diretamente influenciada pela produtividade biológica da água circundante, com o assentamento de larvas meroplancônicas e esporos de algas ocorrendo tipicamente a partir de uma semana após a imersão do substrato. Este período marca o início da fase mais extensa da colonização, sobrepondo-se à dinâmica contínua de recrutamento e à evolução da comunidade microbiana preexistente. A chegada destes eucariontes multicelulares intensifica a complexidade estrutural e funcional do biofilme, transformando-o num ecossistema estratificado e biologicamente diverso (Wahl, 1989).

1.1.3 IMPACTOS NEGATIVOS DA BIOINCRUSTAÇÃO

A bioincrustação no ambiente marinho causa impactos significativos em diversos setores, gerando prejuízos econômicos, ambientais e operacionais. No transporte marítimo, aumenta a resistência ao deslocamento das embarcações, elevando o consumo de combustível (Townsin, 2003), e os custos de manutenção e as emissões de gases poluentes (Farkas *et al.*, 2021). Além disso, facilita a introdução de espécies invasoras, ameaçando ecossistemas locais (Bouda *et al.*, 2018). Na aquicultura, a bioincrustação compromete a qualidade das estruturas de cultivo, reduz a produtividade e exige gastos contínuos com limpeza e controle (Fitridge *et al.*, 2012). Infraestruturas submersas, como plataformas de petróleo, píeres e tubulações, também sofrem com corrosão acelerada, obstruções e falhas em equipamentos (Hopkins *et al.*, 2021). Diante

desses desafios, a busca por soluções eficientes de combate à bioincrustação torna-se essencial e premente para mitigar os impactos desse fenômeno.

1.1.4 ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DA BIOINCRUSTAÇÃO

1.1.4.1 Tintas Anti-incrustantes Convencionais

As tintas anti-incrustantes convencionais são amplamente utilizadas para prevenir a fixação de organismos marinhos em embarcações e estruturas submersas. Entre os principais compostos empregados historicamente, destacam-se os organoestânicos, como o tributilestanho (TBT), conhecidos por sua alta eficiência, mas proibidos devido aos seus impactos ambientais severos (Champ, 2003). Atualmente, os compostos à base de cobre são os mais utilizados, liberando íons metálicos que inibem o crescimento de bioincrustações (Srinivasan; Swain, 2007). Além disso, substâncias como herbicidas (Owen *et al.*, 2002) também são incorporadas às formulações para ampliar a proteção. Apesar de eficazes, essas soluções que causam riscos ambientais, impulsionando a busca por alternativas mais sustentáveis (Cao *et al.*, 2011; Champ, 2003; Owen *et al.*, 2002; Srinivasan; Swain, 2007).

Diversas estratégias vêm sendo aplicadas para mitigar os impactos da bioincrustação em tubulações associadas ao ambiente marinho. As abordagens incluem métodos mecânicos, como o *pigging* (passagem de dispositivos de limpeza pelo interior da tubulação), a lavagem com fluxos de água em alta velocidade e o uso de filtros e telas nas entradas do sistema, também são empregados para remoção física dos organismos e sedimentos. Além disso, o projeto hidrodinâmico das estruturas, com o objetivo de manter o fluxo turbulento e utilizar a ação das marés ou das ondas para limpeza natural, pode contribuir significativamente para a prevenção da incrustação, tratamentos com radiação UV ou ozônio para redução da carga microbiana na água, e inspeções periódicas com veículos operados remotamente (ROVs) para monitoramento e manutenção preventiva (French, 2022; Lakretz *et al.*, 2018).

1.1.4.2 Alternativas Sustentáveis para o Controle da Bioincrustação

Diante dessas preocupações, alternativas sustentáveis vêm ganhando espaço no cenário global de combate à bioincrustação. Os revestimentos biomiméticos, inspirados em superfícies naturais, dificultam a adesão de incrustantes sem o uso de biocidas. Polímeros de baixo atrito e revestimentos à base de silicone também oferecem uma solução eficiente ao reduzir a fixação de organismos sem impactos químicos. Além disso, substâncias naturais extraídas de macroalgas, corais e outros organismos marinhos estão sendo estudados por suas propriedades anti-incrustantes (Chen *et al.*, 2021; Clare, 1996; Selim *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2020).

Outras abordagens inovadoras incluem o uso de correntes elétricas de baixa intensidade, que alteram as condições da superfície, para inibir a fixação de organismos sem prejudicar o meio ambiente (Long *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2022), e a tecnologia de ultrassom, que impede o crescimento de bioincrustação por meio de microvibrações que desestabilizam a adesão dos microrganismos (Varello *et al.*, 2023). Essas soluções sustentáveis vêm se mostrando promissoras, proporcionando métodos eficazes para o controle da bioincrustação com menor impacto ambiental. No entanto, as tecnologias anti-incrustantes envolvendo ultrassom também merecem atenção devido à imprevisibilidade das consequências da poluição sonora, que pode afetar populações e ecossistemas marinhos (Varello *et al.*, 2023).

1.2 A PESCA ARTESANAL E SUA IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA E CULTURAL

A pesca artesanal é uma atividade tradicional realizada em pequena escala, geralmente por comunidades pesqueiras locais que dependem desse recurso para subsistência e comércio em mercados regionais (Batista *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2012). Esse tipo de pesca é caracterizado pelo uso de embarcações de pequeno porte e métodos seletivos de captura, como redes de espera, tarrafas, espinhéis e redes de cerco flutuante. Essas técnicas são baseadas no conhecimento tradicional transmitido entre gerações e costumam ter um impacto ambiental reduzido, pois utilizam práticas menos agressivas aos ecossistemas marinhos e, muitas vezes, seguem padrões de sazonalidade e

áreas de pesca que permitem a regeneração dos estoques pesqueiros (Batista *et al.*, 2014; Oliveira; Silva, 2012).

Apesar de ser considerada uma atividade sustentável e de menor impacto em relação à pesca industrial, a pesca artesanal pode acarretar sérios efeitos ambientais quando praticada sem regulamentação eficaz. Entre os impactos mais documentados estão a sobrepesca de estoques locais pela operação contínua sobre os mesmos pontos de pesca, o uso de apetrechos não seletivos, que causa alta captura incidental de espécies juvenis e protegidas (Badola *et al.*, 2024). Outro problema relevante é a pesca fantasma, causada por equipamentos abandonados ou perdidos, que continuam capturando organismos por um tempo prolongado (Do; Armstrong, 2023). Além disso, a poluição gerada por apetrechos descartados, vazamentos de óleo e resíduos de processamento pesqueiro agrava o impacto ambiental local. Como soluções, são apontadas a gestão participativa com comunidades locais, implementação de áreas marinhas protegidas, regulação de apetrechos de pesca e promoção de práticas de pesca sustentável e alternativas de subsistência (IMO, 2022).

Além da sua relevância ecológica, a pesca artesanal desempenha um papel fundamental na economia e na sociedade, sendo uma importante fonte de emprego e renda para milhões de pessoas em todo o mundo, especialmente em países em desenvolvimento (Rousseau *et al.*, 2019). Essa atividade garante a segurança alimentar e nutricional de comunidades costeiras e ribeirinhas, fornecendo proteína de qualidade e sustento para diversas famílias. Além disso, movimenta a economia local e regional, fortalecendo mercados internos e promovendo o comércio justo (Paula, 2018).

A pesca artesanal também é um elemento essencial da identidade cultural de muitas comunidades, representando modos de vida que são preservados há séculos. Práticas, técnicas e rituais relacionados à pesca fazem parte do patrimônio imaterial de diversas populações, reforçando laços sociais e mantendo vivas diversas tradições ancestrais (Santos *et al.*, 2012). No entanto, apesar de sua importância, essa atividade enfrenta desafios significativos, como a competição desigual com a pesca industrial (Paula, 2018).

Já a pesca industrial é uma atividade de grande escala, voltada à exploração comercial de recursos pesqueiros em larga quantidade. Utiliza embarcações de grande porte, equipadas com tecnologia avançada, como sonares, redes de arrasto e sistemas de refrigeração, permitindo longas jornadas no mar e a captura massiva de peixes e frutos do mar. Embora seja essencial para suprir a demanda global por pescado, a pesca industrial frequentemente entra em conflito com a pesca artesanal, disputando não apenas os estoques pesqueiros, mas também o espaço marítimo (Granzotto *et al.*, 2004). Em muitas regiões, os pescadores artesanais encontram dificuldades para acessar áreas tradicionalmente utilizadas por suas comunidades devido à expansão da pesca industrial e de outras atividades econômicas, como a aquicultura em larga escala, exploração de petróleo e gás e parques eólicos *offshore* (Doria *et al.*, 2018; Oliveira; Silva, 2012; Xavier; Gorayeb; Brannstrom, 2020).

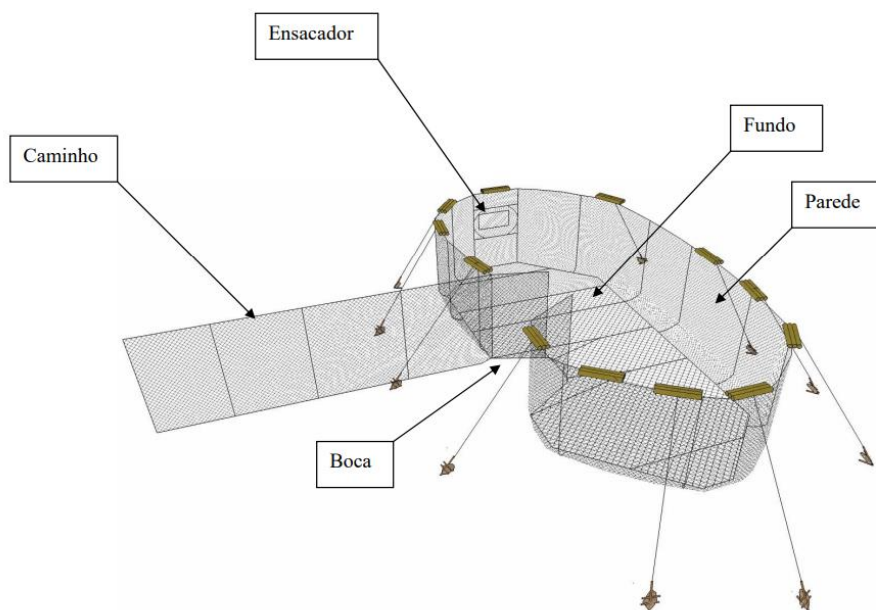
Outro desafio enfrentado pela pesca artesanal é a falta de reconhecimento e de valorização do conhecimento tradicional. O saber acumulado por gerações de pescadores sobre os ciclos naturais, os padrões migratórios dos peixes e as melhores práticas de manejo sustentável, muitas vezes são aspectos ignorados no estabelecimento de políticas públicas e nas regulamentações pesqueiras. Em vez de serem consultadas e incluídas na gestão dos recursos marinhos, as comunidades pesqueiras frequentemente enfrentam dificuldades para garantir seus direitos territoriais e preservar suas formas de vida (Oliveira; Silva, 2012; Paula, 2018).

Enquanto a pesca artesanal está intimamente ligada à cultura e à economia de comunidades costeiras, promovendo a segurança alimentar e a conservação ambiental, a pesca industrial busca a eficiência e o alto rendimento, sendo um setor estratégico para a economia global (Oliveira; Silva, 2012). O equilíbrio entre essas duas abordagens é fundamental para garantir a sustentabilidade dos recursos marinhos e a manutenção das populações que dependem da pesca para sua subsistência. Isso exige políticas públicas que assegurem o direito dos pescadores artesanais ao acesso aos recursos naturais, a valorização do conhecimento tradicional e a promoção de práticas sustentáveis que beneficiem tanto o meio ambiente quanto as comunidades pesqueiras.

1.2.1 REDE DE CERCO FLUTUANTE

A pesca com rede de cerco flutuante é uma técnica passiva introduzida no Brasil por imigrantes japoneses nos anos 1930 e incorporada à cultura caiçara. O cerco é uma armadilha fixa instalada próximo à costa, onde os peixes entram e não conseguem sair, sendo assim capturados vivos. Sua estrutura é composta por uma rede chamada caminho, que guia os peixes até o rodo, um compartimento onde ficam presos. A boca do cerco, com formato de funil, dificulta a fuga, enquanto as copiadas, bóias feitas de bambu ou PVC, sustentam a estrutura. A ancoragem é garantida por poitas, pedras posicionadas estrategicamente (Fig. 1). O funcionamento ocorre 24 horas por dia, com retiradas regulares do pescado capturado representado por diversas espécies. Além de garantir o sustento das comunidades, essa prática representa um importante patrimônio cultural, sendo transmitida por gerações entre os pescadores caiçaras (Begossi, 2011; Monge, 2008).

Figura 1 - Esquema da rede de cerco flutuante



Fonte: (Seckendorff; Azevedo; Martins, 2009)

1.3 O CONHECIMENTO ECOLÓGICO TRADICIONAL (CET) E SUA RELEVÂNCIA

O Conhecimento Ecológico Tradicional (CET) representa um acervo de saberes acumulados ao longo de gerações por comunidades que interagem diretamente com a natureza. Esse conhecimento é construído por meio da

observação contínua e do manejo prático dos recursos naturais, permitindo a identificação de padrões ecológicos, comportamentos de espécies e respostas ambientais a mudanças climáticas e antropogênicas (Doria *et al.*, 2014; Hanazaki, 2003).

Um dos principais valores do CET está na sua capacidade de fornecer informações detalhadas sobre a biologia e ecologia de espécies. Pescadores artesanais, por exemplo, acumulam conhecimento empírico sobre padrões de migração, períodos de reprodução, preferências alimentares e interações tróficas de diversas espécies marinhas. Esses saberes são frequentemente utilizados para orientar práticas de pesca sustentável, regulando a captura de determinadas espécies de acordo com seu ciclo de vida e disponibilidade sazonal (Hanazaki, 2003; Marques, 2012).

Outro aspecto relevante do CET é sua capacidade de fornecer indicadores sobre mudanças ambientais. Comunidades que vivem em contato direto com ecossistemas marinhos, fluviais e terrestres frequentemente percebem alterações sutis nos padrões climáticos antes que essas mudanças sejam detectadas por estudos científicos convencionais. Um exemplo disso ocorreu no médio rio Madeira, onde o CET dos pescadores foi utilizado no Programa Básico Ambiental da Santo Antônio Energia, auxiliando no diagnóstico de espécies de peixes de importância comercial durante a implantação da Usina Hidrelétrica de Santo Antônio. Esse caso evidencia como o conhecimento tradicional complementa o saber científico na avaliação de impactos ambientais (Doria *et al.*, 2014).

No campo da biotecnologia marinha, a integração do CET com a pesquisa científica pode levar à descoberta de novas substâncias bioativas, práticas sustentáveis de manejo de recursos e soluções inovadoras baseadas na natureza. Produtos derivados de plantas, algas e microorganismos, têm potencial para aplicações industriais e farmacológicas (Cox, 2007; Dutfield, 2010).

A conexão entre o CET e a pesca é especialmente relevante quando se considera o manejo sustentável dos recursos pesqueiros e as estratégias empregadas por comunidades tradicionais para otimizar a captura e a

conservação de pescado. Métodos artesanais de pesca, adaptados às condições ambientais locais, frequentemente incorporam técnicas que minimizam impactos sobre os estoques pesqueiros e garantem a continuidade da atividade ao longo do tempo. O uso de materiais naturais para a construção e manutenção de redes e embarcações, bem como a aplicação de corantes vegetais para o tratamento de redes, são exemplos de como o conhecimento tradicional pode contribuir para a eficiência e a sustentabilidade da pesca (Monge, 2008).

A transmissão intergeracional do conhecimento é uma característica marcante das comunidades caiçaras, como demonstra o relato do pescador Paulo Henrique Remédios, de Martim de Sá, que descreve a produção de uma tinta utilizada na rede de cerco flutuante:

"Essa origem da técnica vem que nem eu falei pra vocês. Vem da época do nosso avô que já começou a mexer com rede. [...] E vem passando de geração em geração até hoje" (P. H. Remédios, comunicação pessoal, 8 de novembro de 2023).

Essa continuidade no uso da tintura demonstra a importância dessa prática para a comunidade e a relevância de investigar seus fundamentos. A relação entre o uso tradicional dessa tintura e seus possíveis benefícios biotecnológicos reforça a necessidade de estudos que valorizem e integrem o CET ao conhecimento científico. Dessa forma, a pesquisa não apenas amplia o entendimento sobre os processos naturais envolvidos, mas também contribui para a valorização das práticas culturais das comunidades tradicionais pesqueiras.

1.4 A TINTURA CAIÇARA DE MARTIM DE SÁ PARA REDES DE CERCO FLUTUANTE

1.4.1 MARTIM DE SÁ: CONTEXTO GEOGRÁFICO E SOCIOAMBIENTAL

Localizada na Reserva Ecológica Estadual da Juatinga (REEJ), em Paraty, Rio de Janeiro, a Praia de Martim de Sá é uma área de difícil acesso, preservando sua paisagem natural e o modo de vida tradicional caiçara. O trajeto

até a região pode ser feito apenas por barco, partindo do cais dos pescadores de Paraty ou Paraty-Mirim, ou por trilhas, que variam entre 4 km, saindo da Praia do Pouso da Cajaíba, e 19 km, para aqueles que iniciam a caminhada na Vila Oratório (Instituto Estadual do Ambiente, 2017a).

A comunidade local é formada por um único núcleo familiar, os Remédios, cujo patriarca, Sr. Maneco, foi uma figura central na recepção de visitantes e na administração do único *camping* da praia. Após seu falecimento, em 2020, a gestão passou para seu filho, Paulo Henrique, que mantém as tradições familiares e segue oferecendo hospedagem e alimentação para os turistas, principalmente na alta temporada. Durante o restante do ano, a praia recebe apenas um número reduzido de visitantes, o que contribui para a preservação do ambiente e do estilo de vida caiçara (P. H. Remédios, comunicação pessoal, 8 de novembro de 2023).

No passado, a região de Martim de Sá foi uma fazenda de grande extensão, com cerca de 300 alqueires, utilizada durante o período colonial e escravista. Atualmente, ainda restam ruínas dessa antiga propriedade, preservando fragmentos da história local (Martins, 2012). O nome Martim de Sá faz referência a Martim Corrêa de Sá, governador do Rio de Janeiro em diferentes períodos do século XVII, que liderou expedições pela região de Paraty, seguindo antigas trilhas indígenas que mais tarde seriam conhecidas como "Caminho do Ouro" (IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional, 2014; Monge, 2012).

Inserida na Reserva Ecológica Estadual da Juatinga (REEJ), criada em 1992, a área faz parte do bioma Mata Atlântica e abriga uma diversidade de ecossistemas, incluindo floresta ombrófila densa, restingas, manguezais e costões rochosos (Instituto Estadual do Ambiente, 2017b; Instituto Socioambiental, [s. d.]). A REEJ, entretanto, sobrepõe-se à Área de Proteção Ambiental (APA) Cairuçu, gerida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), o que tem gerado desafios de gestão e conflitos com as comunidades caiçaras, que enfrentam restrições quanto ao uso da terra e à continuidade de suas atividades tradicionais (Aparecida *et al.*, 2013; Vidal, 2013).

Além disso, a categoria de "Reserva Ecológica" não é prevista pelo Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC), instituído pela Lei nº 9.985/2000, o que configura uma irregularidade administrativa. A ausência de um Plano de Manejo e de um Conselho Consultivo agrava os desafios na governança da REEJ (Brasil, 2000; Vidal, 2013).

Para tentar solucionar esses impasses, o Instituto Estadual do Ambiente (INEA) propôs uma recategorização da reserva, sugerindo a criação de uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) para as áreas ocupadas pelas comunidades tradicionais e a conversão das áreas costeiras em Parque Nacional. Essa proposta busca equilibrar a conservação ambiental com a manutenção do modo de vida caiçara, evitando a especulação imobiliária e promovendo um modelo de gestão mais adequado à realidade local (Monge; Lobão; Di Maio, 2013).

1.4.2 A TINTURA TRADICIONAL: PREPARO, USO E PERCEPÇÕES DOS PESCADORES

O conhecimento sobre essa prática foi inicialmente acessado por meio do trabalho de Monge (2008), que descreve aspectos culturais e ecológicos da pesca tradicional na região. Segundo o autor, os pescadores afirmam que a tintura serve para impermeabilizar as redes, aumentar sua resistência ao "limo" ou "lama" (termo utilizado para se referir a algas, organismos incrustantes e até organismos bioluminescentes), além de tornar a rede menos visível aos peixes. A partir dessa descrição, levantamos a hipótese de que a tintura tradicional poderia interferir nos processos de bioincrustação marinha. Assim, decidimos aprofundar a investigação, buscando compreender seu potencial biotecnológico e os efeitos dessa formulação sobre a colonização de organismos e o microbioma associado a superfícies submersas.

A tintura tradicional utilizada na coloração das redes de cerco flutuante em Martim de Sá é produzida a partir da casca de árvores conhecidas localmente como "mangue", "tingicuiá" ou "quaresma". Seu preparo envolve um processo artesanal que combina maceração da casca e fervura em água, resultando em um líquido avermelhado utilizado para tingir as redes (P. H. Remédios, comunicação pessoal, 8 de novembro de 2023).

Além de conferir uma tonalidade escura ao material e aumentar a durabilidade das cordas, a tintura é considerada essencial para a eficácia da pesca na região, sendo associada pelos pescadores ao aumento na quantidade de peixes capturados. Segundo Paulo Henrique Remédios, que atualmente administra o *camping* e as atividades da comunidade, a coloração influenciaria o comportamento dos peixes em relação à rede:

"A importância dela pra nós é porque escuta só: Digamos você fica 3 meses trabalhando com a mesma rede, o fio fica branco. Então o fio não fica pesqueiro que nem quando você tingue com essa tinta. Pra nós fica mais escura, mas não sei o que tem entre ela e o peixe que o peixe frequenta mais ela" (P. H. Remédios, comunicação pessoal, 8 de novembro de 2023. Disponível no Anexo I).

Essa percepção empírica sobre a eficácia da tintura como um possível atrativo ou modulador do comportamento dos peixes é central para a presente pesquisa, que buscou investigar cientificamente os mecanismos envolvidos nesse fenômeno. A relação entre a coloração das redes e a captura de peixes pode estar associada a fatores como contraste visual, alterações na assinatura química do material ou até mesmo propriedades biológicas da tintura, abrindo espaço para análises no campo da biotecnologia marinha.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar o potencial anti-incrustante da tinta natural tradicional de Martim de Sá (Paraty) na inibição da fixação de bioincrustantes e na modulação da comunidade microbiana em substratos submersos, tanto em ensaios laboratoriais quanto em condições de campo, com vistas a demonstrar sua eficácia e elucidar os mecanismos biológicos e químicos envolvidos.

Para tanto, os objetivos específicos foram: (1) comparar a aderência inicial de organismos e a formação de biofilme em papel filtro impregnado com

diferentes concentrações da tinta e em controle, por meio de ensaio de incubação em laboratório; (2) avaliar a colonização inicial em cordas tratadas versus cordas controle submetidas a imersões na Baía de Guanabara por 1, 7, 14 e 21 dias; (3) utilizar o sequenciamento do gene 16S rRNA para analisar alterações na composição microbiana e realizar análises de diversidade Alpha e Beta e (4) conduzir a caracterização química do extrato da tinta por CLUE-EMAR (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência associada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução) e análise de redes no GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*), a fim de identificar compostos bioativos potencialmente responsáveis pelo efeito anti-incrustante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 SOLICITAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO E CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Em conformidade com a Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos, a atividade de acesso ao Patrimônio Genético e ao Conhecimento Tradicional Associado (CTA) foi devidamente cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). O cadastro foi realizado sob o número A4AF29D, com a finalidade de pesquisa e desenvolvimento tecnológico. Essa etapa assegura a legalidade do uso dos recursos genéticos e dos saberes tradicionais envolvidos na presente investigação.

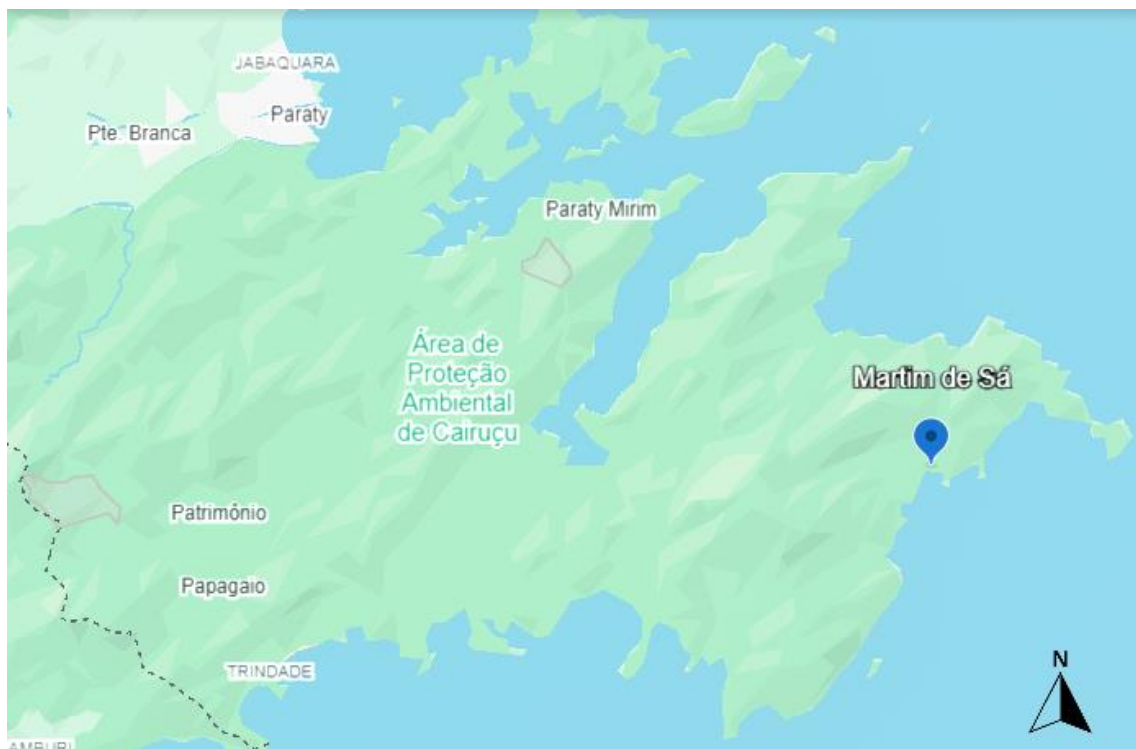
2.2 ÁREA DE ESTUDO

Este estudo foi realizado em três locais principais, correspondentes às diferentes etapas da pesquisa:

- **Martim de Sá, Paraty (RJ):** Local onde vive a família Remédios, que forma a comunidade caiçara de Martim de Sá (Figs. 2 e 3). O conhecimento tradicional sobre a produção da tinta foi obtido principalmente por meio do pescador Paulo Henrique, que compartilhou todo o processo de sua produção, desde a coleta da matéria-prima (plantas) até a sua aplicação. As interações ocorreram durante visitas à comunidade e, nessas ocasiões, foram realizadas conversas informais e

observações diretas sobre a extração da casca da árvore utilizada, os métodos tradicionais de preparo e os benefícios percebidos pelos pescadores no uso da tinta para tingimento das redes de cerco. Durante essas interações, foram feitas anotações detalhadas em diário de campo, garantindo o registro do conhecimento compartilhado. Além disso, foi considerada a sustentabilidade da extração da casca, sendo informado que a retirada ocorre de forma controlada para permitir a regeneração da árvore, conforme os saberes tradicionais da comunidade.

Figura 2 - Localização de Martim de Sá, Paraty, Rio de Janeiro, Brasil. -23.302288248876106, -44.55459539782374.



Fonte: Google Earth

Figura 3 - Imagem da Praia de Martim de Sá, Paraty, RJ.



Fonte: De autoria própria, 2023.

- **Laboratório de Ecologia Química Marinha (LEQMar) da Universidade Federal Fluminense (UFF):** Parte da tinta foi preparada em ambiente laboratorial para padronização das amostras utilizadas nos testes experimentais.
- **Baía de Guanabara, Niterói (RJ) – Diretoria de Hidrografia e Navegação (DHN):** Local onde os experimentos de campo para exposição das cordas tratadas com a tinta foram conduzidos para avaliar a bioincrustação e a colonização microbiana. A área é conhecida por apresentar colonização rápida e intensa de bioincrustantes e influência de atividades portuárias. A atividade foi realizada no Navio Ciências do Mar III (Fig. 4) que ficou atracado na BHMN durante todo o experimento.

Figura 4 - Imagem do Navio Ciências do Mar III.



Fonte: Site da UFF.

2.3 COLETA DO MATERIAL

A coleta de material (plantas) e a preparação da tinta foram realizadas em colaboração com os pescadores locais de Martim de Sá. Durante visitas à comunidade, foram realizadas conversas informais para compreender o processo tradicional de extração e preparo da tinta. Essas interações foram registradas em um diário de campo, documentando as técnicas utilizadas e as percepções dos pescadores sobre a eficácia da tinta. Além disso, foi levantada a preocupação com a sustentabilidade da extração da casca, sendo informado que a retirada ocorre de forma controlada para garantir a regeneração da árvore, conforme a prática tradicional da comunidade.

A coleta do material foi feita durante uma trilha guiada pelo caiçara Paulo Henrique Remédios, atual chefe da família local, que indicou a árvore utilizada para a produção da tinta "mais forte". Essa árvore é popularmente chamada de "mangue", embora não esteja relacionada ao ecossistema de manguezal. A identificação botânica precisa da árvore não foi possível durante o período do

estudo, pois ela não apresentava flores ou frutos, elementos essenciais à identificação taxonômica.

Utilizando um facão, cascas da árvore foram retiradas (Fig. 5 A), revelando uma coloração vermelho-vivo sob uma camada externa marrom.

Foram coletadas cascas suficientes para a produção de aproximadamente 5 litros de tinta (Fig. 5 B), conforme os cálculos do pescador, garantindo uma extração sustentável que permite a rápida regeneração da árvore, segundo a sua experiência.

Após a coleta, as cascas foram levadas até o final da trilha em sacolas plásticas. Em seguida, Paulo utilizou um martelo sobre uma base de madeira para separar a polpa da casca externa e macerá-la (Fig. 5 C). O material foi armazenado em sacos plásticos *ziplock*, envoltos em papel alumínio e congelados até a manhã seguinte. Após 24h de armazenamento de polpa e casca, este material foi transportado em bolsas térmicas para o Laboratório de Ecologia Química Marinha da UFF, em Niterói.

Figura 5 - Coleta do material: A. Retirada da casca da árvore indicada. B Cascas coletadas sendo levadas para processamento. C. Maceração do material.



Fonte: De autoria própria, 2024.

2.4 PREPARO DA TINTA

No laboratório, a polpa da casca foi pesada em balança analítica, totalizando 1.000,83 g. Em seguida, ela foi transferida para um béquer de 4 litros contendo 3,5 litros de água destilada, onde permaneceu em repouso até o dia seguinte, quando teve início o processo de fervura.

Após 24h, um ebulidor foi inserido na mistura dentro de uma capela (Fig. 6). A capela foi utilizada como medida de segurança, devido à possibilidade de liberação de vapores potencialmente tóxicos durante a fervura de um material de composição química desconhecida. Devido a superaquecimento, o ebulidor precisou ser desligado em alguns momentos, resultando nos períodos de fervura descritos na tabela 1, totalizando 4 horas de fervura (Tab. 1). Durante esse tempo, foi adicionada mais água destilada conforme a evaporação ocorria, somando um total de 2,8 litros adicionais.

Figura 6 – Imagem do preparo da tinta com auxílio de ebulidor.



Fonte: De autoria própria.

Tabela 1 - Períodos de ebulição, totalizando 4h.

Período	Horário	Duração
1º	10:50 - 11:50	1h
2º	12:20 - 13:50	1h30min
3º	14:20 - 14:50	30min
4º	15:20 - 16:20	1h

Fonte: De autoria própria.

Após as 4 horas de fervura, o líquido foi peneirado (peneira plástica comum) para remoção de particulado, resultando em 2 litros de extrato concentrado. Em seguida, foram adicionados mais 3 litros de água para atingir a concentração sugerida pelo detentor do conhecimento tradicional, correspondendo a 1 kg de polpa para 5 litros de tinta. Portanto, ao final do processo obteve-se uma tinta na concentração de 200 g/L. A tinta foi armazenada em balde com tampa na geladeira a 5°C.

2.5 TESTES DE FIXAÇÃO DE BISSOS COM MEXILHÃO (*Perna perna*)

2.5.1 Desenho experimental

Como os mexilhões se fixam no substrato utilizando bissos, os tratamentos foram planejados para avaliar se a tinta poderia estimular ou inibir esse processo, de acordo com Da Gama (2003). Assim, foram estabelecidos os seguintes grupos:

- Tratamento (T): Tinta "pura" aplicada ao papel filtro.
- Tratamento 50% (D): Tinta diluída em água destilada (1:1) aplicada ao papel filtro.
- Controle (C): Água destilada aplicada ao papel filtro.

Além da concentração pura, testamos também uma diluição de 50%, considerando o tamanho significativamente pequeno de uma placa de Petri (90x15 mm) com um volume de 90 mL, quando comparado com o ambiente marinho, onde a diluição diminui a toxicidade. Cada tratamento e controle foram feitos com 14 réplicas.

2.5.2 PREPARO DO SUBSTRATO

Para determinar a quantidade de tinta necessária por unidade experimental, utilizamos uma regra de três simples. Como 1 kg de casca produz 5 L de tinta, e o papel filtro utilizado pesava 0,45 g, a proporção necessária foi calculada como 2,25 mL de tinta por unidade experimental.

Cada papel filtro foi embebido em 2,25 mL do seu respectivo tratamento. Tratamento (T), tinta "pura"; Tratamento 50% (D), tinta diluída em água destilada (1:1) e Controle (C), água destilada.

Os papéis foram deixados para secagem em temperatura ambiente (entre 20-25°C) até o dia seguinte para garantir uma fixação uniforme da tinta antes da exposição aos organismos.

2.5.3 COLETA DOS MEXILHÕES

Os espécimes de mexilhões *P. perna* foram coletados na Praia de Itaipu, Niterói (RJ) (Fig. 8 A), durante a maré baixa, utilizando espátulas para retirá-los do substrato rochoso (Fig. 8 B). Os organismos foram transportados secos (Fig. 8 C) até o Laboratório de Ecologia Química Marinha da UFF.

Figura 7 - Coleta de mexilhões. A) Imagem da praia de Itaipu - Niterói, RJ. 2024. B) Raspagem do substrato para retirada dos mexilhões. C) Transporte dos mexilhões.



Fonte: De autoria própria.

2.5.4 ACLIMATAÇÃO E SELEÇÃO DOS ORGANISMOS

No laboratório, os mexilhões foram inicialmente colocados em uma bandeja com água salgada artificial (35 psu, preparada com sal marinho comercial e água destilada) para limpeza, utilizando tesouras para remover

incrustações e outros organismos aderidos. Em seguida, foram transferidos para outra bandeja, também com água salgada artificial, onde foi observado o comportamento de exploração, caracterizado pela emissão do pé do mexilhão (Fig.8, seta). Os mexilhões que demonstraram esse comportamento foram selecionados para a realização dos bioensaios e transferidos para uma bandeja seca. O tempo total desde a coleta até o início do experimento foi de aproximadamente 4 horas.

Figura 8 - Mexilhões demonstrando comportamento exploratório. Setas indicando a emissão do pé do mexilhão.



Fonte: De autoria própria.

2.5.5 EXPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO

Após a coleta e preparo dos mexilhões, os bioensaios foram conduzidos em um sistema controlado. As placas de Petri (90x15 mm) foram montadas com 45 mL de água salgada artificial e o papel filtro previamente preparado (seco) foi adicionado. Três mexilhões foram colocados em cada placa de Petri, e as placas foram distribuídas aleatoriamente em uma bancada (Fig. 9). O fotoperíodo foi

programado para simular a luminosidade ao longo de um ciclo natural de luz, incluindo amanhecer e entardecer e a temperatura definida em 23°C.

Figura 9 - Bioensaio de mexilhões montado. *Placas de Petri distribuídas aleatoriamente sobre a bancada.



Fonte: De autoria própria.

Após um período de exposição de 24 horas, os bissos produzidos pelos mexilhões foram contados visualmente com o auxílio de uma lupa estereoscópica. Foi feita análise quantitativa da adesão em cada tratamento. Além da contagem total de bissos, foi registrada a localização da fixação de cada bisso: no papel filtro, na lateral da placa de Petri ou em outro mexilhão (Fig. 10).

Após a avaliação da fixação dos bissos, foi realizado um teste de mortalidade. Os mexilhões foram transferidos para um aquário com água salgada artificial (35 psu) e, após 24 horas, foi verificada a mortalidade, considerando-se mortos os organismos que não apresentavam resposta a estímulos mecânicos (toque com uma pinça no pé ou na concha).

Figura 10 – Imagem de mexilhão com bisso fixado em outro indivíduo da espécie.



Fonte: De autoria própria.

2.6 ENSAIO DE CAMPO: CORDAS NO NAVIO CIÊNCIAS DO MAR III

Este tópico descreve os experimentos realizados *in situ* para avaliar o efeito da tinta tradicional caiçara sobre a bioincrustação e a comunidade microbiana no ambiente natural, em cordas submersas na Baía de Guanabara.

2.6.1 PREPARO DAS CORDAS

Foram preparadas as cordas a serem utilizadas como unidades experimentais e como suporte para o experimento. Foram utilizados três tipos de corda:

- **Corda A (Suporte):** 30 pedaços de corda trançada monofilamento 100% polietileno, ocas internamente, com 60 cm de comprimento cada. Em cada extremidade inferior, foram inseridas três peças de chumbo (25,2 g cada, 6 cm de comprimento e 8 mm de diâmetro) para garantir o afundamento. A ponta da corda foi fechada com lacre plástico e as pontas foram queimadas para evitar desfiamento.

- **Corda B** (Bioincrustação Macroscópica): 30 pedaços de corda de polipropileno branca, com 10 mm de diâmetro e 20 cm de comprimento. A escolha do polipropileno para as Cordas B se deve ao fato de ser o mesmo material utilizado nas redes de cerco em que a tinta é tradicionalmente aplicada pela comunidade caiçara.
- **Corda C** (Análise Genômica): 90 pedaços de corda de polipropileno de 3 mm de diâmetro, com 5 cm de comprimento (mesma justificativa da Corda B).
- **Corda D** (Guia/Flutuante): Corda de 20mm de polipropileno. Além disso, foram preparadas 32 boias (garrafas PET) pintadas de amarelo internamente para facilitar a identificação e auxiliar na flutuação do sistema.

2.6.2 PREPARO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS

Metade das Cordas B (15 unidades) e das Cordas C (45 unidades) foram imersas na tinta preparada anteriormente por 1 hora. A outra metade (15 Cordas B e 45 Cordas C) foi imersa em água destilada, servindo como controle (Fig. 11). Após o processo de imersão, as cordas foram mantidas em bandeja, ao sol, por cerca de 5 horas, até estarem completamente secas.

Figura 11 – Imagem das cordas sendo tratadas com a tinta (A) e controle com água destilada (B).

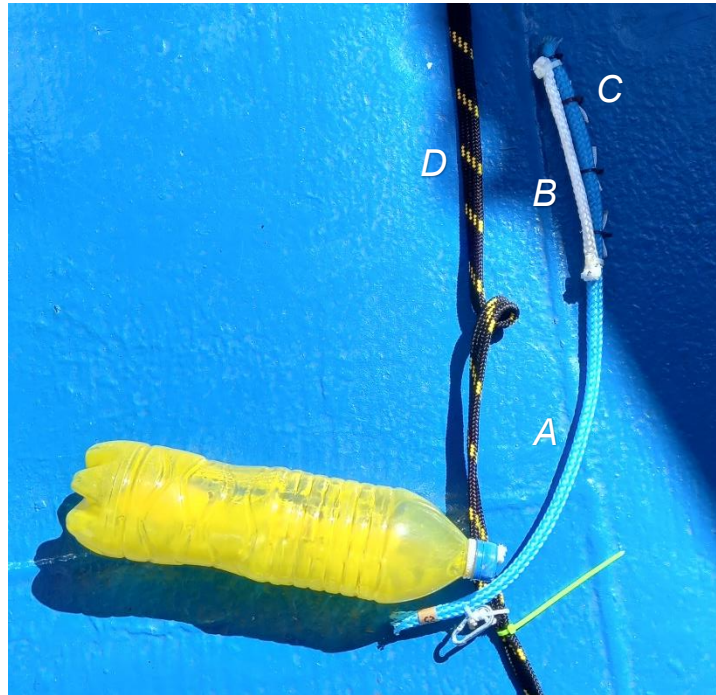


Fonte: De autoria própria.

2.6.3 MONTAGEM DO ENSAIO

As Cordas B e as Cordas C foram fixadas nas Cordas A com lacre plástico nas extremidades. Em cada Corda A, foi fixada uma Corda B de um lado e três Cordas C do outro lado, de forma alternada (Fig. 12).

Figura 12 – Imagem da unidade estrutural experimental no bioensaio de campo.



Fonte: De autoria própria.

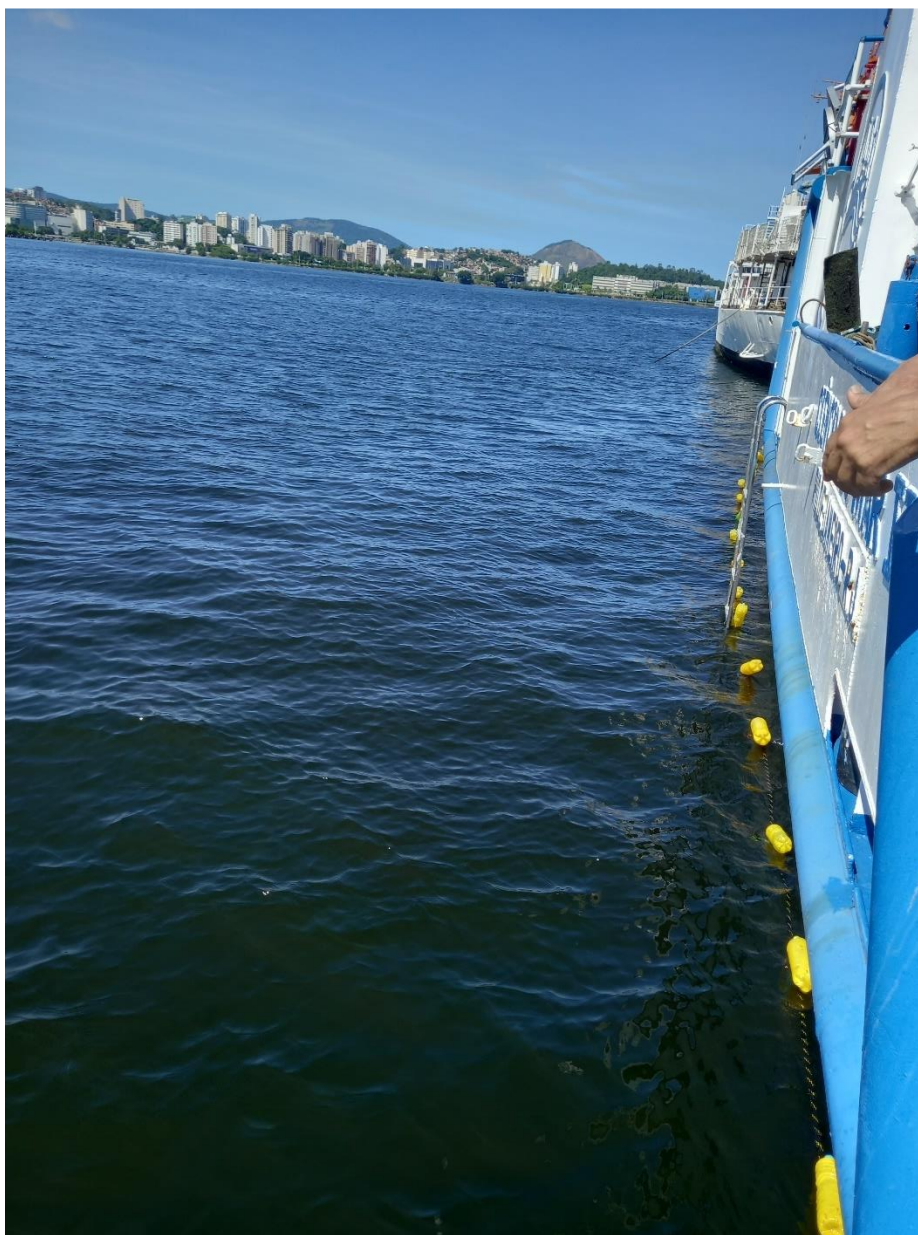
Uma corda flutuante (Corda D) de polipropileno de 20 mm de diâmetro foi utilizada como guia na linha d'água. As Cordas A (com as unidades experimentais já fixadas) foram penduradas na Corda D de forma randomizada, utilizando amarração e mosquetão.

O espaçamento entre as Cordas A (unidades experimentais) na Corda D (guia) foi de 1,2 m para evitar o entrelaçamento subaquático.

A Corda D (guia) foi levada para a água, ancorada em suas duas extremidades e amarrada ao Navio Ciências do Mar III, atracado na Base De Hidrografia Da Marinha Em Niterói (DHN), na Baía de Guanabara (Fig. 13).

Ao lado de cada Corda A (unidade experimental), foi amarrada uma boia de garrafa PET na Corda D para evitar a formação de "barrigas" e manter o sistema esticado.

Figura 13 - Disposição do experimento no navio Ciências do Mar III.



Fonte: De autoria própria.

2.6.4 MONITORAMENTO E COLETA DE AMOSTRAS

Monitoramentos foram realizados nos dias 1, 7, 14 e 21 e 28 dias após a instalação do experimento. Devido a uma tempestade, parte do material foi perdido entre os dias 21 e 28, especificamente, a maior parte das Cordas B (destinadas à análise da bioincrustação macroscópica), impossibilitando a análise quantitativa e qualitativa da bioincrustação macroscópica planejada

inicialmente. Portanto, as análises subsequentes se concentraram nas Cordas C, destinadas às análises genéticas da comunidade microbiana.

Cada monitoramento seguiu o mesmo protocolo:

Cinco unidades experimentais do grupo tratamento e cinco do grupo controle foram selecionadas de forma aleatória. As unidades selecionadas em cada monitoramento foram:

- 1 dia:

Tratamento: T3, T6, T8, T11, T12

Controle: C2, C4, C10, C11, C14

- 7 dias:

Tratamento: T2, T5, T7, T9, T12

Controle: C1, C3, C6, C8, C10

- 14 dias:

Tratamento: T1, T6, T9, T13, T15

Controle: C2, C3, C7, C12, C15

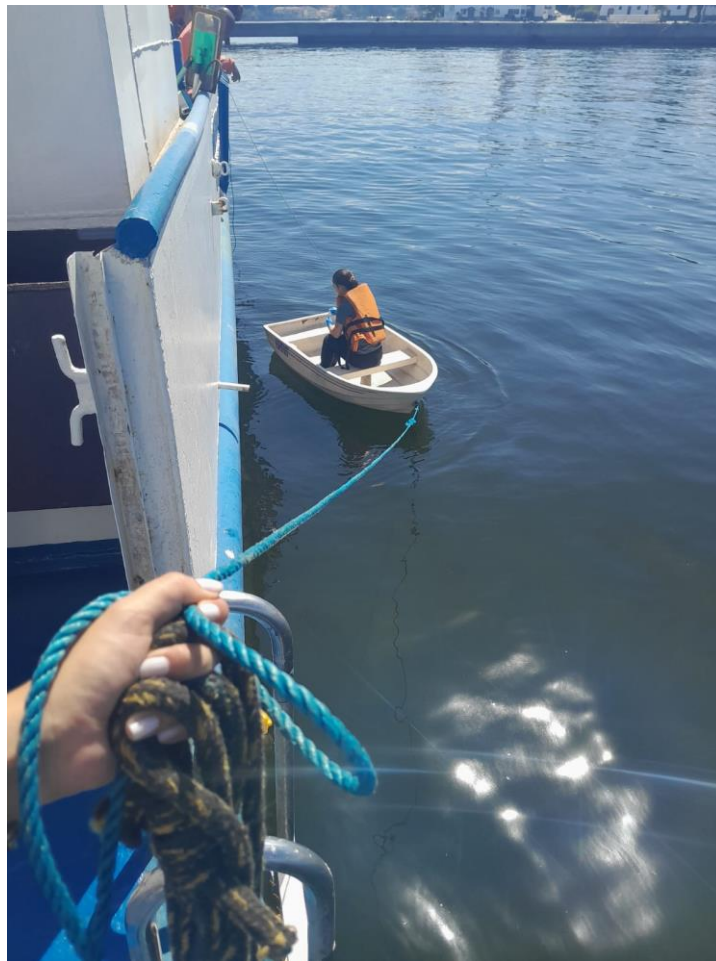
- 21 dias:

Tratamento: T3, T4, T9, T11, T13

Controle: C2, C3, C4, C8, C12

Com auxílio de um bote, foram coletadas as cordas C, rompendo-se o lacre e retirando-se uma das três cordas disponíveis em cada unidade experimental (Fig. 14). O processo foi realizado com o uso de luvas, e as amostras foram armazenadas individualmente em criotubos.

Figura 14 - Coleta semanal das amostras.



Fonte: De autoria própria.

2.7 CARCTERIZAÇÃO DO MICRIOBIOMA FÚNGICO E BACTERIANO

2.7.1 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO

Os fragmentos de corda foram triturados utilizando tesoura desinfectada com álcool, então uma fração foi separada e submetida à extração de DNA utilizando o kit DNeasy PowerSoil Pro Kits (Qiagen, EUA) seguindo o protocolo da fabricante. O material genético resultante da extração foi quantificado através do fluorômetro Qubit (ThermoFisher, EUA). O material genético então foi enviado à empresa StarSEQ (Mainz, Alemanha) para amplificação e sequenciamento.

A região variável V4-V5 do gene 16s rRNA (TRINGE & HUGENHOLTZ, 2008) do material genético obtido das amostras foi amplificada através da reação em cadeia da polimerase (PCR) e o sequenciamento do DNA resultante feito através da plataforma Illumina Miseq (Illumina, USA).

2.7.2 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DAS COMUNIDADES

As análises das sequências foram realizadas através do *software* Qiime2 (BOLYEN, 2019) e o controle de qualidade e remoção de quimeras com o q2-DADA2 (CALLAHAN, 2016). Sequências que apresentaram boa qualidade foram agrupadas em ASVs (Amplicon Sequence Variant), através do DADA2 e então alinhadas utilizando o banco de dados Silva v138 (QUAST, 2012). Singletons, Cloroplastos e mitocôndrias foram removidos do conjunto de dados antes das análises.

Para analisar a variação entre tipos de amostras diferentes, uma análise PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis) (KELLY, 2015) foi realizada utilizando o phyloseq.

2.7.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA E PRODUÇÃO DE GRÁFICOS

Análises estatísticas foram feitas no Ambiente *R*, utilizando o pacote Phyloseq para a avaliação de diversidade e abundância de táxons diferencial (MCMURDIE, 2013). Diversidade alfa foi calculada através da função “plot_Richness” e a análise da *Network* do Microbioma gerada através da função “plot_network”. MDS (*Multidimensional Scaling*) foi utilizada para a ordenação entre todas as comunidades através da distância de Bray-Curtis. A contagem de Reads foi normalizada antes da análise. A significância da análise de diversidade foi averiguada através dos testes de Kruskal-Wallis e PERMANOVA assumindo o valor de $p < 0,05$.

Para avaliar os efeitos do tratamento com a tinta natural sobre a diversidade alfa ao longo do tempo, foram utilizados os índices *Observed species*, Chao1 e Shannon. Em seguida à caracterização descritiva dos padrões de diversidade, avaliou-se formalmente a significância dessas diferenças. Primeiro, foi utilizado o teste de Shapiro–Wilk para verificar a normalidade dos dados, confirmando distribuição não normal e justificando o uso de testes não paramétricos. Para avaliar mudanças ao longo do tempo dentro de cada grupo, aplicou-se o teste de Kruskal–Wallis e, somente quando esse indicou $p < 0,05$, realizou-se o *post-hoc* de Dunn para identificar os pares temporais com diferenças significativas. Dessa forma, garantimos que tanto as comparações pontuais quanto as

tendências temporais fossem analisadas com o método estatístico mais apropriado.

Para avaliar os efeitos do tratamento com a tinta natural sobre a diversidade β ao longo do tempo, utilizamos as três métricas de β -diversidade: substituição, aninhamento e dissimilaridade total, calculadas a partir da matriz de distâncias de Bray–Curtis. Em seguida à caracterização descritiva dos padrões de β -diversidade em cada intervalo (1×7, 7×14, 14×21, 1×14 e 1×21 dias), avaliou-se formalmente a significância dessas diferenças. Primeiro, aplicou-se o teste de Shapiro–Wilk para verificar a normalidade dos dados; constatou-se violação da normalidade para substituição e aninhamento, orientando o uso de testes não-paramétricos. Para explorar a estrutura composicional global, realizamos uma ordenação não-métrica (NMDS) sobre a matriz de distâncias de Bray–Curtis, seguida de PERMANOVA (999 permutações) para testar os efeitos de Tratamento e de Intervalo de Tempo (*fator time_pair*) na composição das comunidades. Dessa maneira, garantimos que tanto as comparações pontuais de cada métrica de β -diversidade quanto a análise multivariada fossem conduzidas com os métodos estatísticos mais apropriados.

2.8 ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO

A técnica de Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (CLUE-EMAR) foi utilizada para a caracterização química do extrato. Após essa etapa, foi realizada a desreplicação a fim de identificar as substâncias presentes na amostra. Esse processo consistiu na análise dos dados obtidos por CLUE-EMAR utilizando a biblioteca da plataforma GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*), que permitiu a comparação de perfis espectrais e a anotação de substâncias presentes no extrato das cascas de plantas.

2.8.1 PREPARO DO MATERIAL

As cascas da planta fresca foram armazenadas em um freezer a -20°C e, em seguida, submetidas à liofilização para desidratação sem aquecimento, evitando a degradação de substâncias termossensíveis.

Após a secagem a frio, o material foi triturado em um cadinho com pistilo de porcelana. Cerca de 41,44 g do material vegetal foram embebidos em 414 mL

de uma solução extrativa hidroalcoólica na proporção de 9:1 (v/v) de etanol e água, mantendo uma razão de 1:10 (m/v). A mistura foi submetida à extração rápida assistida por ultrassom em um banho ultrassônico (Unique USC1400) sob temperatura de 22°C, frequência de 40 kHz e potência de 120 W, por 30 minutos. Após a extração, a solução foi filtrada utilizando papel de filtro de celulose qualitativo (Sigma-Aldrich®) e deixada em uma capela de fluxo de ar para evaporação. O extrato semi-seco resultante foi congelado e novamente submetido à liofilização para eliminação completa da água, até atingir peso constante. Após isso foi pesado 10 mg do extrato para a análise.

2.8.2 ANÁLISE POR CLUE-EMAR

A composição química do extrato foi investigada utilizando um sistema UltiMate 3000 UHPLC (Thermo Fisher Scientific, EUA) acoplado a um espectrômetro de massas Orbitrap Q Exactive Plus (Thermo Scientific, EUA), equipado com uma fonte de ionização por eletrospray.

Os extratos foram solubilizados utilizando metanol de modo a obter uma concentração final de 10 mg/mL. Posteriormente, as soluções foram homogeneizadas em vórtex por 30 segundos, seguido de banho em ultrassom por 5 min, para ajudar na solubilização, e centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado (100 µL) em um tubo de vidro com insert e analisado por CLUE-EMAR.

A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Thermo Scientific® Synchronis HPLC C18 (2.1 unidade cm³ x 50 mm x 1,7 µm de diâmetro de partícula). A fase móvel utilizada foi composta por água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico (solvente A) e metanol contendo 0,1% de ácido fórmico (solvente B), empregando um gradiente de eluição:

- 15% B (0,0 – 1,0 min),
- 15 a 95% B (1,0 - 8,0 min),
- 95% B (8,0 – 15,0 min),
- 15% B (15,1 – 20,0 min).

O fluxo da fase móvel foi ajustado para 0,35 mL/min, com um volume de injeção de 5 µL e a coluna mantida a 40 °C. Os parâmetros da fonte de ionização foram configurados com gás de cobertura e auxiliar em 50 e 15 unidades arbitrárias, respectivamente. A voltagem do spray foi ajustada para ± 3600 V, com voltagem da lente S de 50 V. A temperatura do capilar foi fixada em 320 °C, enquanto a temperatura da fonte permaneceu em 400 °C.

Os dados foram adquiridos no modo varredura total de íons (full scan) na faixa de m/z 100-1000, em modo de ionização positiva e negativa, com resolução de 35.000 (FWHM), AGC de 1×10^6 e tempo de injeção (IT) de 100 ms. Também foi realizada a aquisição dependente de dados (ddMS2top3) com resolução de 17.500 (FWHM), AGC de 1×10^5 , IT de 50 ms, energia de colisão normalizada (NCE) de 15-35 e janela de isolamento de 1,2 Da.

2.8.3 PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE NO GNPS

Os espectros obtidos no modo de ionização positivo e negativo foram convertidos para o formato mzXML por meio do software MSConvert (*ProteoWizard Software Foundation*, Palo Alto, CA, EUA). Os dados foram processados utilizando o software MSDIAL versão 4.9 definindo-se os seguintes parâmetros principais:

- Tolerância de massa de MS1: 0.02 Da
- Tolerância de massa de MS2: 0.02 Da
- Intensidade mínima do sinal: $1,0 \times 10^{11}$
- Tolerância de tempo de retenção no alinhamento: 0,1 min

Os dados processados foram exportados e submetidos a plataforma GNPS (<https://gnps.ucsd.edu>, WANG et al., 2016) e analisados pelo fluxo de trabalho Feature-Based Molecular Networking (FBMN). Para essa análise, os seguintes parâmetros foram estabelecidos:

- Tolerância de massa de íon precursor e de íons fragmentos: 0,02 Da
- Escore de cosseno superior a 0,70 e presença de pelo menos 4 picos correspondentes aos espectros da biblioteca.

3 RESULTADOS

3.1 TESTES DE FIXAÇÃO DE BISSOS COM MEXILHÃO (*Perna perna*)

A Tabela 2 apresenta o número de bissos emitidos pelos mexilhões após 24 horas de exposição em cada tratamento: controle, tinta integral e tinta diluída. Os valores estão divididos entre o total de bissos fixados e sua distribuição nas diferentes superfícies analisadas (placa, mexilhão e filtro). Essa organização permitiu comparar a fixação entre os diferentes tratamentos e identificar possíveis variações na adesão dos bissos conforme a condição experimental.

Tabela 2 - Número de bissos emitidos por mexilhões (*Perna perna*) após 24 horas de exposição aos diferentes tratamentos. Distribuição do número de bissos fixados por *Perna perna* nas diferentes superfícies experimentais: placa de Petri, corpo de outro mexilhão e filtro de papel, sob três condições distintas — controle (sem tinta), tinta natural integral e tinta natural diluída. Os valores representam a contagem total e sua subdivisão por superfície em cada unidade experimental

controle				Integral				diluído			
total	placa	mexilhão	filtro	total	placa	mexilhão	filtro	total	placa	mexilhão	filtro
25	11	8	6	19	0	10	9	24	0	12	12
11	1	10	0	26	0	10	16	13	13	0	0
15	7	3	5	14	4	0	10	22	0	11	11
13	1	12	0	26	0	12	14	0	0	0	0
17	4	13	0	14	0	0	14	13	13	0	0
19	19	0	0	12	0	4	8	15	15	0	0
14	0	14	0	35	9	12	14	0	0	0	0
13	4	9	0	15	0	2	13	21	1	10	10
7	6	1	0	11	4	0	7	2	2	0	0
16	0	16	0	24	0	11	13	0	0	0	0
13	0	13	0	33	0	0	33	3	3	0	0
11	0	10	1	41	39	2	0	6	0	3	3
24	0	24	0	23	0	2	21	24	4	10	10
22	5	14	3	21	0	0	21	11	7	2	2

Fonte: De autoria própria.

A análise de variância (ANOVA) (Tab.3) indicou que o fator tratamento teve um efeito significativo na fixação de bissos ($p < 0.05$), enquanto o fator substrato, isoladamente, não apresentou efeito significativo (que efeito? Inibitório ou estimulante?). No entanto, a interação entre tratamento e substrato foi estatisticamente robusta ($p < 0.001$), evidenciando que o efeito do tratamento variou de acordo com o substrato.

Tabela 3 - Análise de variância (ANOVA) para a fixação de bissos por *Perna perna*. *Valores de graus de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM).

	GL	SQ	QM	Valor F	p-valor
tratamento	2	307.9	153.94	3.9862	0.02115 *
s substrato	2	117.6	58.79	1.5224	0.22247
tratamento : s substrato	4	1373.6	343.39	8.8920	2.641e-06 ***
Resíduo	117	4518.3	38.62		

Fonte: De autoria própria. *Valores de graus de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM).

A comparação múltipla de Tukey (Tab. 4) revelou que a fixação de bissos no controle do substrato filtro foi significativamente menor em relação aos demais grupos ($p < 0.05$), sendo classificada isoladamente dentro do grupo "a". Em contraste, a aplicação do tratamento integral no filtro resultou na maior taxa de fixação, agrupando-se estatisticamente de forma isolada no grupo "c", indicando um efeito expressivo do tratamento na indução da fixação.

No substrato mexilhão, o grupo controle apresentou valores de fixação superiores aos do substrato filtro controle, evidenciando que os bissos tendem a se fixar preferencialmente em outros mexilhões. O tratamento integral no filtro apresentou valores de fixação estatisticamente próximos ao controle no substrato mexilhão, conforme indicado pelo agrupamento "bc" na análise de Tukey, sugerindo que o tratamento alterou significativamente as propriedades do substrato filtro, tornando-o comparável ao substrato naturalmente preferido pelos bissos.

Os valores médios estimados (emmeans) mostram que o substrato filtro controle apresentou a menor fixação de bissos (1.07 ± 1.66), enquanto o filtro tratado integralmente apresentou a maior (13.79 ± 1.66). O substrato mexilhão controle apresentou fixação intermediária (10.50 ± 1.66), sendo estatisticamente distinto do controle filtro, mas sobreposto ao filtro tratado. Essas observações reforçam a hipótese de que o tratamento influenciou diretamente a fixação dos bissos, tornando substratos naturalmente pouco atrativos em superfícies altamente favoráveis à adesão.

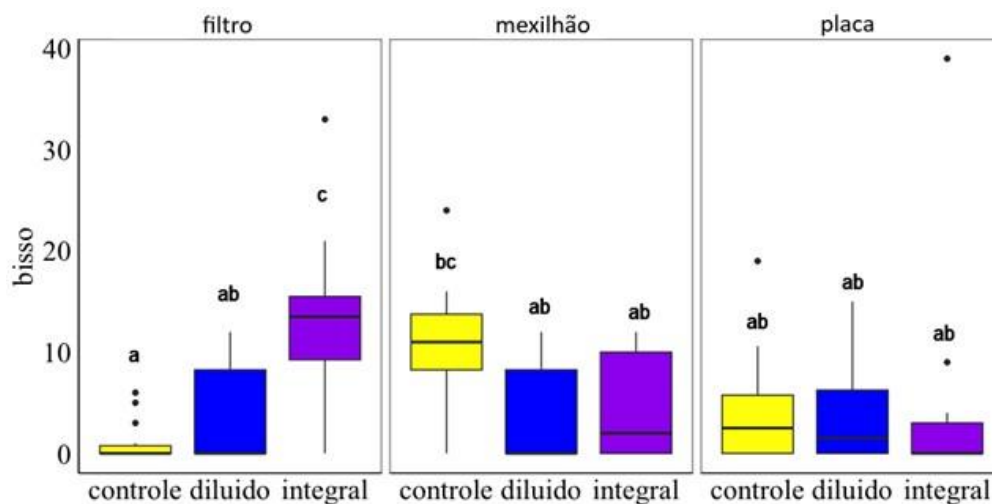
Tabela 4 - Comparação das médias de fixação de bissos por Perna perna entre combinações de tratamento e substrato, com teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). *Médias estimadas de bissos fixados, erro padrão (EP), limite inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança (95%), graus de liberdade (GL) e agrupamento estatístico conforme o teste de Tukey. Grupos com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas.

tratamento	substrato	média	EP	GL	LI	LS	grupo
controle	filtro	1.07	1.66	117	-2.218	4.36	a
diluido	filtro	3.43	1.67	117	0.139	6.72	ab
diluido	mexilhão	3.43	1.68	117	0.139	6.72	ab
integral	placa	4.00	1.69	117	0.711	7.29	ab
controle	placa	4.14	1.70	117	0.854	7.43	ab
diluido	placa	4.14	1.71	117	0.854	7.43	ab
integral	mexilhão	4.64	1.72	117	1.354	7.93	ab
controle	mexilhão	10.50	1.73	117	7.211	13.79	bc
integral	filtro	13.79	1.74	117	10.496	17.07	c

Fonte: De autoria própria.

O gráfico boxplot (Fig.15) ilustra essas diferenças, indicando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, baseando-se nas letras atribuídas pelo teste de Tukey. A sobreposição parcial de grupos (como "bc") reforça que determinados tratamentos podem aproximar substratos inicialmente distintos em termos de fixação de bissos.

Figura 15 - Fixação de biscoitos por Perna perna em diferentes combinações de tratamento e substrato. Boxplots representando a quantidade de biscoitos fixados após 24 horas de exposição aos tratamentos controle, tinta diluída e tinta integral, considerando os substratos filtro, mexilhão e placa. As letras indicam agrupamentos estatísticos conforme o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$), onde grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas.



Fonte: De autoria própria.

3.2 QUANTIFICAÇÃO DE DNA

A Tabela 5 apresenta os valores de quantificação de DNA obtidos ao longo do experimento para cada tratamento e tempo analisado.

Tabela 5 - Quantificação de DNA (ng/μl) obtida por Qubit ao longo do experimento, de acordo com o tratamento e o tempo de exposição. *Valores de concentração de DNA extraído das amostras coletadas nos dias 1, 7, 14 e 21, para os tratamentos com tinta natural e controle. As análises foram realizadas utilizando o fluorômetro Qubit, expressas em ng/μl.

tempo (dias)	amostra	tratamento	Quantificação (Qubit- ng/μl)
1	G1	tinta	0.308
	G2		0.317
	G3		0.108
	G4		0.74
	G5		0.123
	G6	controle	0.242
	G7		0.688
	G8		0.68
	G9		0.48
	G10		0.492

(continua)

tempo (dias)	amostra	tratamento	Quantificação (Qubit- ng/ μ l)
7	G11	tinta	5
	G12		7.4
	G13		8.6
	G14		9.96
	G15		9.76
	G16	controle	2.63
	G17		4.12
	G18		5.08
	G19		7.2
	G20		5.28
14	G21	tinta	5.52
	G22		14.6
	G23		8.36
	G24		10.2
	G25		13
	G26	controle	6.08
	G27		13.2
	G28		11.5
	G29		10.6
	G30		12.3
21 dias	G31	tinta	15.5
	G32		14.2
	G33		11.3
	G34		13.7
	G35		13.4
	G36	controle	14.2
	G37		13
	G38		12.6
	G39		13
	G40		12.6

Fonte: De autoria própria.

(conclusão)

A ANOVA (Tab. 6) indicou que o fator tempo teve um efeito altamente significativo sobre a quantificação de DNA ($p < 0,001$), evidenciando um aumento progressivo ao longo dos dias. No entanto, o fator tratamento não apresentou efeito significativo isoladamente ($p = 0,2017$), e a interação entre tempo e tratamento também não foi estatisticamente significativa ($p = 0,1516$), sugerindo que a resposta ao tratamento não variou significativamente ao longo do tempo.

Tabela 6 - Análise de variância (ANOVA) para os valores de quantificação de DNA ao longo do tempo e entre tratamentos. * Valores de graus de liberdade (GL), soma dos desvios, desvios residuais, valor de F e p-valor para os fatores “tempo”, “tratamento” e sua interação.

variável	GL	desvio	GL residual	desvio residual	valor F	p-valor
tempo	3	944.29	36	150.55	82.29	<0,001
tratamento	1	6.5	35	144.06	1.7	0,2017
tempo x tratamento	3	21.66	32	122.4	1.89	0,1516

Fonte: De autoria própria.

A análise de comparações múltiplas pelo teste de Tukey (Tab. 7) revelou que no dia 1, tratamento e controle não apresentaram diferenças significativas, ambos pertencendo ao grupo 'a'. No dia 7, houve um aumento na quantidade de DNA em ambos os grupos, com o controle pertencendo ao grupo 'b' e o tratamento ao grupo 'bc'. Embora o tratamento tenha apresentado um aumento mais expressivo, ele não formou um grupo totalmente distinto do controle. Nos dias 14 ('cd') e 21 ('d'), a quantidade de DNA continuou aumentando, mas sem diferenças estatísticas entre tratamento e controle nesses tempos.

Tabela 7 - Comparação das médias de quantificação de DNA (ng/μl) entre tratamentos ao longo do tempo com teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). * LI e LS correspondem aos limites inferior e superior do intervalo de confiança (95%). Letras diferentes indicam grupos estatisticamente distintos segundo o teste de Tukey.

tempo	tratamento	média	EP	LI	LS	grupo
1 dia	controle	0.516	0.875	- 1.27	2.3	a
1 dia	tinta	0.319	0.875	- 1.46	2.1	a
7 dias	controle	4.862	0.875	3.07	6.65	b
7 dias	tinta	6.148	0.875	4.35	7.95	bc
14 dias	controle	10.336	0.875	8.54	12.13	cd
14 dias	tinta	10.219	0.875	8.42	12.01	cd
21 dias	controle	12.563	0.875	10.77	14.35	d
21 dias	tinta	13.300	0.875	11.51	15.08	d

Fonte: De autoria própria.

O modelo GLM (Tab. 8) confirmou os achados da ANOVA, demonstrando que o tempo teve um efeito significativo na quantificação de DNA. Os coeficientes do modelo indicam um aumento significativo nos tempos de 7, 14 e 21 dias, enquanto o efeito do tratamento isolado e a interação tempo:tratamento não foram estatisticamente significativos. O intercepto representa a média de referência, correspondente ao grupo controle no tempo inicial.

Esses resultados indicam que a quantificação de DNA aumentou ao longo do tempo, independentemente do tratamento aplicado.

Tabela 8 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) para a quantificação de DNA ao longo do tempo e entre tratamentos. *Estimativas dos coeficientes do modelo GLM com seus respectivos erros padrão (EP), valores de t e p-valores para os efeitos principais (tempo e tratamento) e suas interações. O intercepto representa o valor médio da quantificação de DNA no grupo controle no tempo 1 dia.

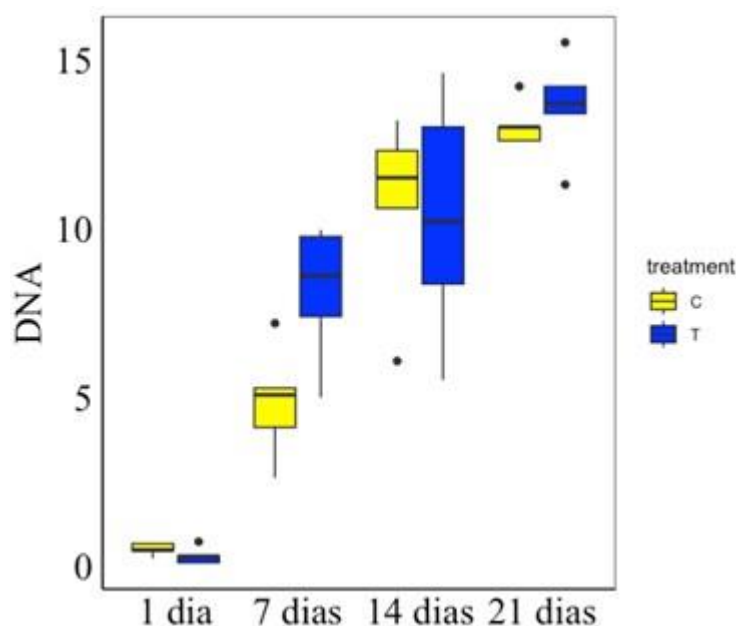
variável	estimativa	EP	valort	p-valor
intercepto	0.5164	0.8746	0.590	0.55906
7 dias	4.3456	1.2369	3.513	0.00134
14 dias	10.2196	1.2369	8.262	1,94E-09
21 dias	12.5636	1.2369	10.157	1,55E-11
tinta	-0.1972	1.2369	-0.159	0,8743
interação 7 dias x tinta	3.4792	1.7493	1.989	0,05532
interação 14 dias x tinta	-2028	1.7493	-0.116	0,90843
interação 21 dias x tinta	0.7372	1.7493	0.421	0,67626

Fonte: De autoria própria.

O gráfico de boxplot (Fig.16) apresenta a distribuição da quantidade de DNA ao longo do tempo para os grupos controle e tratamento. Observa-se que, no dia 1, ambos os grupos exibem valores semelhantes, com pouca variação entre as amostras. No dia 7, nota-se um aumento na mediana do tratamento em relação ao controle, acompanhado de uma maior dispersão dos dados. Nos dias 14 e 21, a tendência de aumento na quantidade de DNA se mantém, com ambos os grupos apresentando medianas mais elevadas e sobreposição nos intervalos interquartis. Esses resultados indicam um crescimento progressivo da

quantidade de DNA ao longo do tempo, com diferenças mais evidentes a partir do dia 7, conforme evidenciado pela análise estatística complementar.

Figura 16 - Distribuição da quantificação de DNA ao longo do tempo para os grupos controle (C) e tratamento (T) * Boxplots representando a concentração de DNA (ng/μl) extraída das amostras nos dias 1, 7, 14 e 21, para os grupos controle (amarelo) e tratamento com tinta (azul). A mediana, quartis e valores extremos ilustram a variação da biomassa microbiana ao longo do tempo.



Fonte: De autoria própria.

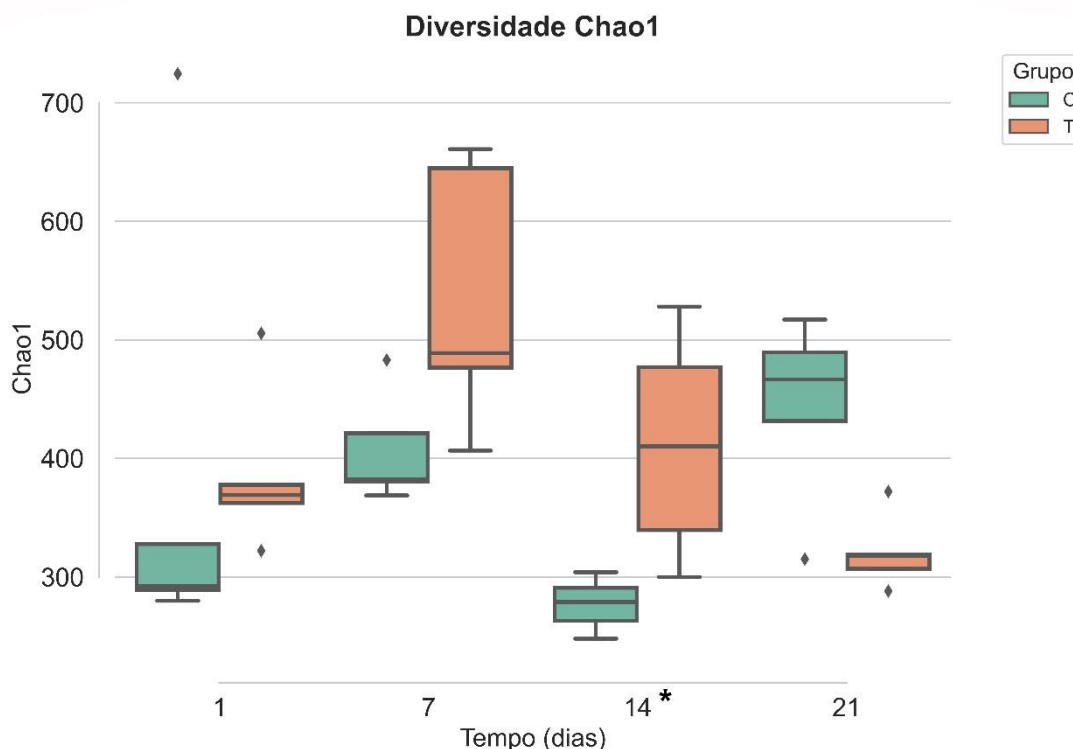
3.3 CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA FÚNGICO E BACTERIANO

3.3.1 DIVERSIDADE ALFA

O índice Chao1, que estima a riqueza total incluindo espécies raras, apresentou padrões distintos entre os grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos quatro tempos de submersão (Fig. 17). No dia 1, o controle registrou mediana em torno de 295 unidades, enquanto o tratamento iniciou em aproximadamente 370, ambas com caixas estreitas indicando baixa variabilidade. Aos 7 dias, o grupo tratado atingiu seu pico de riqueza estimada, com mediana próxima a 485 e ampla dispersão, contrastando com a mediana do controle em ≈ 405 e IQR reduzido. No dia 14, ambos os grupos sofreram queda na mediana – o controle recuou para ≈ 285 e o tratamento para ≈ 410 – embora o tratamento mantivesse dispersão maior. No dia 21, o controle recuperou riqueza estimada, alcançando mediana de ≈ 460 com IQR moderado, já o tratamento estabilizou em mediana mais baixa (≈ 315) e menor variação. Esses resultados

indicam que o tratamento promoveu um aumento precoce da riqueza rara até a segunda semana, seguido de declínio, enquanto o controle exibiu uma recuperação gradual apenas no final do experimento.

Figura 17 - Variação do índice Chao1 nos grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos dias de submersão. * Boxplots representando a estimativa de riqueza de espécies (Chao1) nas amostras coletadas nos dias 1, 7, 14 e 21, para os grupos controle (verde) e tratamento (laranja).

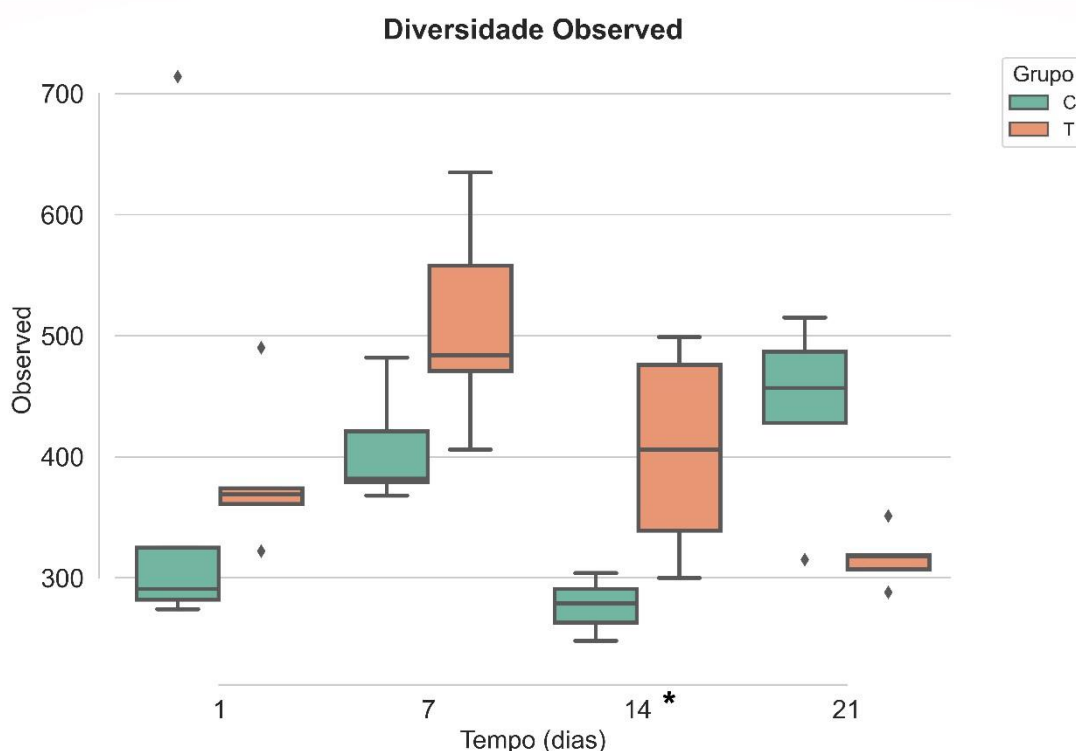


Fonte: De autoria própria.

A riqueza bruta de táxons, medida pelo índice Observed, apresentou padrões diferenciados entre os grupos controle e tratamento ao longo dos tempos de submersão (Fig. 18). No dia 1, o controle registrou mediana em torno de 290 táxons, enquanto o tratamento iniciou com valor mais elevado, próximo a 370, ambos com amplitude interquartílica reduzida. Aos 7 dias, o grupo tratamento atingiu o pico de riqueza, com mediana em cerca de 480 táxons e maior dispersão entre as réplicas, enquanto o controle manteve mediana em aproximadamente 410 e variabilidade menor. No dia 14, ambos os grupos apresentaram redução na mediana — o tratamento recuou para cerca de 400 táxons e o controle para cerca de 280 —, refletindo uma estabilização temporária das comunidades. Finalmente, no dia 21, o controle recuperou riqueza, alcançando mediana próxima a 460 táxons, enquanto o tratamento se estabilizou

em torno de 310 táxons, com caixas mais estreitas. Esses resultados indicam que, embora o tratamento tenha impulsionado um aumento precoce na colonização (pico aos 7 dias), o controle gradualmente recuperou riqueza apenas na fase final do experimento.

Figura 18 - Variação da riqueza observada (Observed) nos grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos tempos de submersão. * Boxplots representando a riqueza bruta de táxons (índice Observed) nos dias 1, 7, 14 e 21, para os grupos controle (verde) e tratamento (laranja).

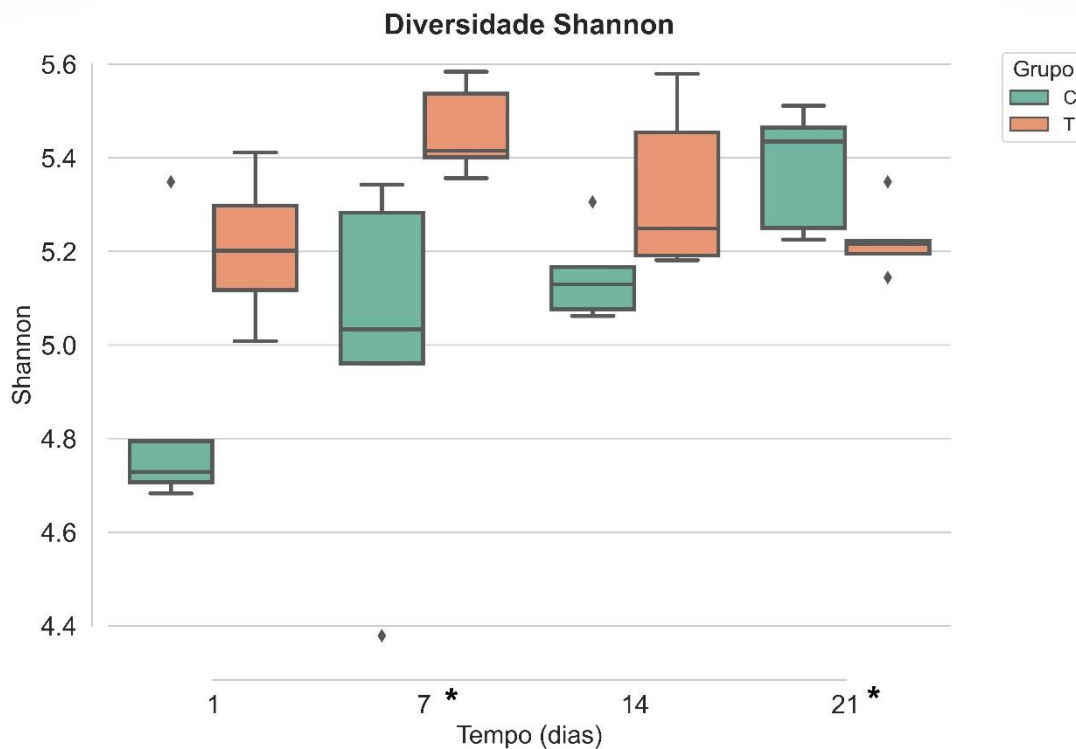


Fonte: De autoria própria.

O índice *Shannon*, que combina riqueza e equitatividade, foi acompanhado ao longo dos quatro tempos de submersão para os grupos controle (C) e tratamento (T) (Fig. 19). No dia 1, o controle exibiu mediana em torno de 4,75, com IQR estreito, enquanto o tratamento iniciou em mediana próxima a 5,20, com variação ligeiramente maior. Aos 7 dias, o grupo controle aumentou sua mediana para cerca de 5,00, mas com amplitude interquartílica maior, refletindo maior heterogeneidade entre réplicas; já o tratamento atingiu seu pico de equitatividade, com mediana em torno de 5,50, indicando comunidade muito equilibrada naquele tempo. No dia 14, o controle manteve tendência ascendente (mediana $\approx 5,15$) e o tratamento apresentou pequena

redução ($\approx 5,25$), ambos com sobreposição dos quartis. Por fim, no dia 21, o controle alcançou sua mediana máxima, perto de 5,45, enquanto o tratamento estabilizou em $\approx 5,20$, com IQR reduzido. Esses padrões evidenciam que a equitatividade da comunidade no tratamento foi mais pronunciada até o 7º dia, seguido de leve declínio e estabilidade, enquanto o controle mostrou um aumento gradual e constante da diversidade ao longo do tempo.

Figura 19 - Variação do índice de diversidade de Shannon nos grupos controle (C) e tratamento (T) ao longo dos tempos de submersão. * Boxplots representando a diversidade de Shannon nos dias 1, 7, 14 e 21 para os grupos controle (verde) e tratamento (laranja).



Fonte: De autoria própria.

A suposição de normalidade foi rejeitada para todos os índices (Shapiro–Wilk: Observed $W=0,91$, $p<0,01$; Chao1 $W=0,90$, $p<0,01$; Shannon $W=0,92$, $p<0,01$) (Tab. 9), o que motivou o uso de testes não paramétricos.

Tabela 9 - Teste de normalidade (Shapiro–Wilk) aplicado aos índices de diversidade alpha. *Valores da estatística W e respectivos p-valores do teste de Shapiro–Wilk para os índices de diversidade Observed, Chao1 e Shannon.

índice	estatística	p-valor	normalidade
observed	0.9131	0.0047	não normal
chao1	0.8988	0.0018	não normal
shannon	0.9234	0.0099	não normal

Fonte: De autoria própria.

Para avaliar a variação ao longo do tempo foi aplicado Kruskal–Wallis + Dunn. Para Observed e Chao1, o Kruskal–Wallis indicou mudanças significativas no controle ($p=0,015$ e $p=0,012$, respectivamente) e no tratamento ($p=0,01$ e $p=0,02$) (Tab. 11). O post-hoc de Dunn mostrou, no controle, diferença entre 14 e 21 dias e, no tratamento, entre 7 e 21 dias (Tab. 12).

Para Shannon, o Kruskal–Wallis foi significativo apenas no controle ($p=0,045$); o Dunn identificou diferença entre 1 e 21 dias (Tab.11). No tratamento, não houve variação temporal significativa em Shannon, de modo que não se aplicou Dunn.

Esses resultados confirmam que a tinta modulou pontualmente a riqueza (aos 14 dias) e afetou a equitatividade (aos 7 e 21 dias), além de alterar as dinâmicas de sucessão microbiana ao longo do tempo.

Tabela 10 - Teste de Kruskal–Wallis para análise da variação temporal dos índices de diversidade alfa em cada grupo experimental. * Valores de p para os índices Observed, Chao1 e Shannon em cada grupo (controle –C e tratamento – T). Asteriscos (*) indicam significância ($p < 0,05$), que justificou a realização da análise post-hoc de Dunn.

Índice	Grupo	p-valor	
Observed	C	0,0147849	*
	T	0,0147074	*
Chao1	C	0,0122307	*
	T	0,0216605	*
Shannon	C	0,0454249	*
	T	0,0592712	

Fonte: De autoria própria.

Tabela 11 - Comparações múltiplas entre tempos pelo teste de Dunn para os índices de diversidade alfa nos grupos controle e tratamento. * Comparações entre tempos de exposição para os índices Observed, Chao1 e Shannon nos grupos controle (C) e tratamento (T), conforme identificado como significativo pelo teste de Kruskal–Wallis.

índice	grupo	comparação	p-valor
observed	C	21 vs 14	0,0180013
observed	T	21 vs 7	0,00729658
chao1	C	21 vs 14	0,0138785
chao2	T	21 vs 7	0,01160221
shannon	C	21 vs 14	0,03845666

Fonte: De autoria própria.

3.3.2 DIVERSIDADE BETA

A substituição de táxons entre amostras, foi acompanhada em cinco intervalos de tempo para os grupos controle (C) e tratamento (T) (Fig. 20).

No intervalo 1×7 dias, o controle exibiu mediana em torno de 0,39, com IQR relativamente amplo ($\approx 0,34$ – $0,43$), enquanto o tratamento iniciou em mediana próxima a 0,37 e IQR mais estreito ($\approx 0,35$ – $0,40$), indicando maior heterogeneidade de substituição entre as réplicas de Controle.

Em 7×14 dias, o controle manteve a substituição estável e baixa (mediana $\approx 0,24$; IQR $\sim 0,23-0,26$), ao passo que o tratamento apresentou mediana um pouco mais alta ($\approx 0,26$) e IQR expandido ($\sim 0,24-0,30$), incluindo um outlier superior ($\approx 0,40$), sugerindo maior dispersão desta métrica no Tratamento após o primeiro intervalo.

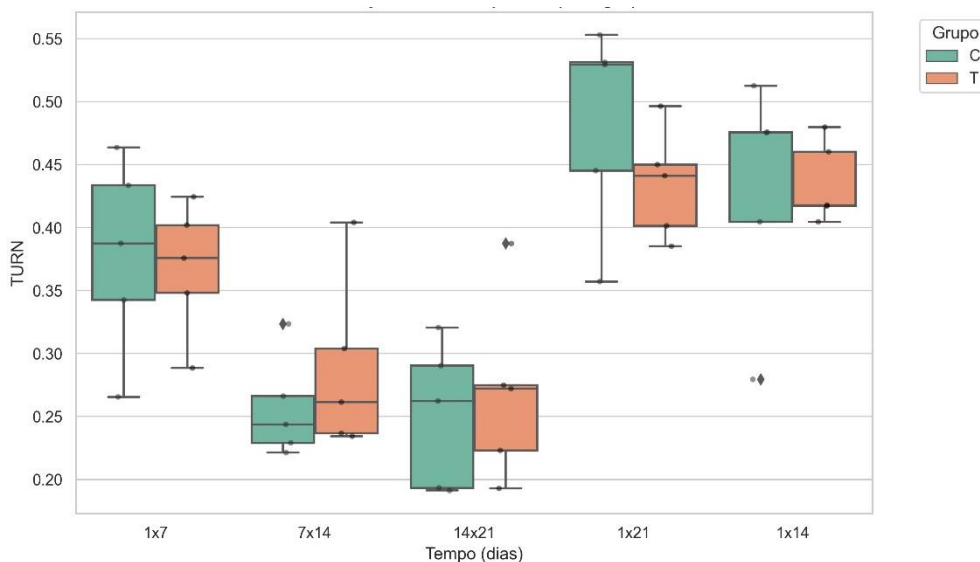
No intervalo 14×21 dias, ambos os grupos convergiram para valores intermediários de substituição, com medianas em torno de 0,26–0,27, refletindo estabilidade na dinâmica de substituição de táxons nesse período.

Para 1×21 dias, o controle exibiu substituições mais elevadas de todos os tempos (mediana $\approx 0,53$; IQR $\sim 0,45-0,54$), enquanto o tratamento permaneceu em valores mais baixos (mediana $\approx 0,44$; IQR $\sim 0,40-0,45$), sugerindo maior reorganização de comunidades ao longo de todo o experimento no grupo Controle.

Finalmente, em 1×14 dias, as medianas foram semelhantes entre Controle ($\approx 0,47$; IQR $\sim 0,41-0,48$) e Tratamento ($\approx 0,46$; IQR $\sim 0,42-0,48$), com quartis amplamente sobrepostos, confirmando que, apesar das flutuações, as distribuições de substituição não diferem drasticamente entre C e T.

Esses padrões descrevem como a substituição de táxons variou ao longo do tempo e entre condições, evidenciando maior variabilidade pontual no Controle, mas sem um deslocamento consistente que favoreça exclusivamente o Tratamento.

Figura 20 - Variação da substituição entre tempos experimentais nos grupos controle (C) e tratamento (T). * Boxplots representando os valores de substituição, que indicam a substituição de táxons entre dois tempos.



Fonte: De autoria própria.

O índice de aninhamento, que reflete o grau em que as comunidades posteriores são subconjuntos das anteriores, foi acompanhado em cinco intervalos de tempo para os grupos controle (C) e tratamento (T) (Fig. 21).

No intervalo 1×7 dias, o controle exibiu mediana em torno de 0,055, com IQR relativamente amplo ($\approx 0,010$ – $0,100$) e um outlier em $\approx 0,23$, enquanto o tratamento iniciou em mediana mais baixa ($\approx 0,035$), IQR estreito ($\approx 0,005$ – $0,040$) e outlier em $\approx 0,16$, apontando maior heterogeneidade de aninhamento no controle logo após o primeiro dia.

Em 7×14 dias, o controle apresentou mediana elevada ($\approx 0,115$; IQR $\approx 0,090$ – $0,170$) e dois outliers superiores ($\approx 0,16$ e $\approx 0,19$), ao passo que o tratamento manteve um aninhamento mais modesto (mediana $\approx 0,070$; IQR $\approx 0,030$ – $0,105$), sugerindo que, nessa fase intermediária, o substrato tratado favoreceu uma composição menos aninhada.

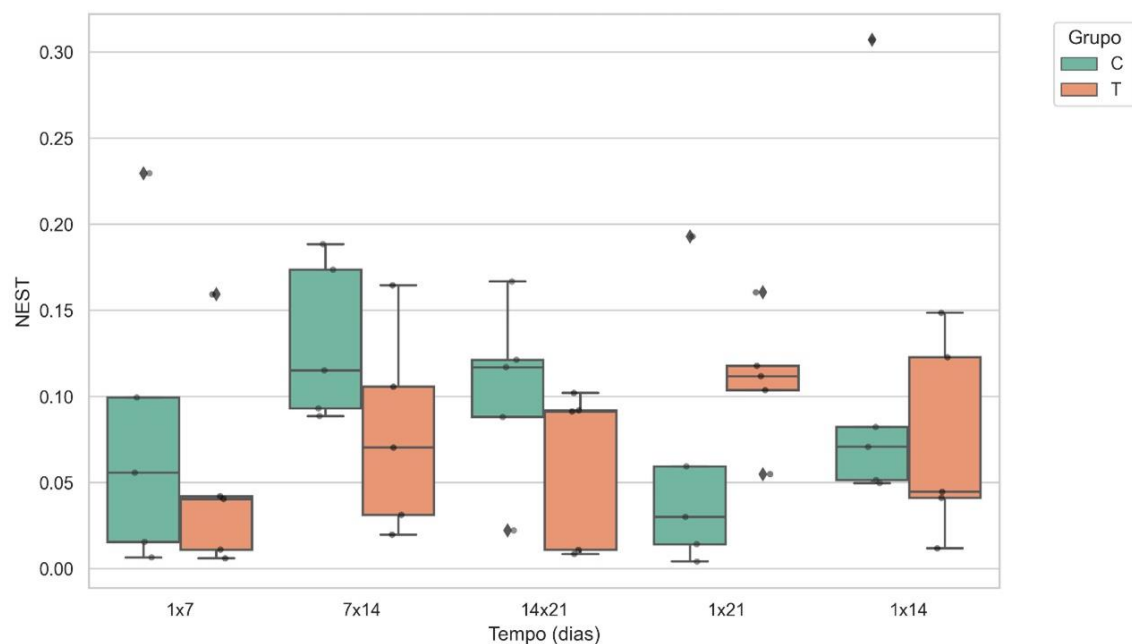
No intervalo 14×21 dias, o controle continuou com alto aninhamento (mediana $\approx 0,115$), porém com IQR muito estreito ($\approx 0,090$ – $0,120$), indicando réplicas homogêneas, enquanto o tratamento ficou em mediana inferior ($\approx 0,090$)

mas com IQR mais amplo ($\approx 0,010$ – $0,100$), refletindo maior dispersão de aninhamento entre réplicas sob o tratamento.

Para 1×21 dias, observou-se inversão de padrão: o controle exibiu aninhamento baixo (mediana $\approx 0,030$; IQR $\approx 0,010$ – $0,060$), com um *outlier* em $\approx 0,20$, e o tratamento atingiu seu pico (mediana $\approx 0,110$; IQR $\approx 0,105$ – $0,120$), sugerindo que, ao comparar amostras iniciais e finais, o tratamento levou a um grau significativamente maior de aninhamento.

Por fim, em 1×14 dias, o controle mostrou aninhamento moderado (mediana $\approx 0,070$; IQR $\approx 0,050$ – $0,080$), enquanto o tratamento manteve mediana mais baixa ($\approx 0,040$) mas IQR ampliado ($\approx 0,015$ – $0,150$), indicando variabilidade acentuada de aninhamento nesse intervalo.

Figura 21 - Variação do índice de aninhamento entre os intervalos de tempo nos grupos controle (C) e tratamento (T). * Boxplots representando os valores de nestedness (NEST), avaliados entre dois tempos.



Fonte: De autoria própria.

O índice de dissimilaridade total (DIS), que integra substituição e aninhamento para refletir a variação composicional global, foi avaliado em cinco intervalos de tempo para os grupos controle (C) e tratamento (T) (Fig. 22).

No intervalo 1×7 dias, o controle exibiu mediana em torno de 0,46, com IQR de $\approx 0,44$ –0,48 e um outlier em $\approx 0,50$, enquanto o tratamento iniciou com mediana próxima a 0,42, IQR mais estreito ($\approx 0,41$ –0,44) e sem outliers marcantes, sugerindo maior heterogeneidade composicional no controle logo no começo.

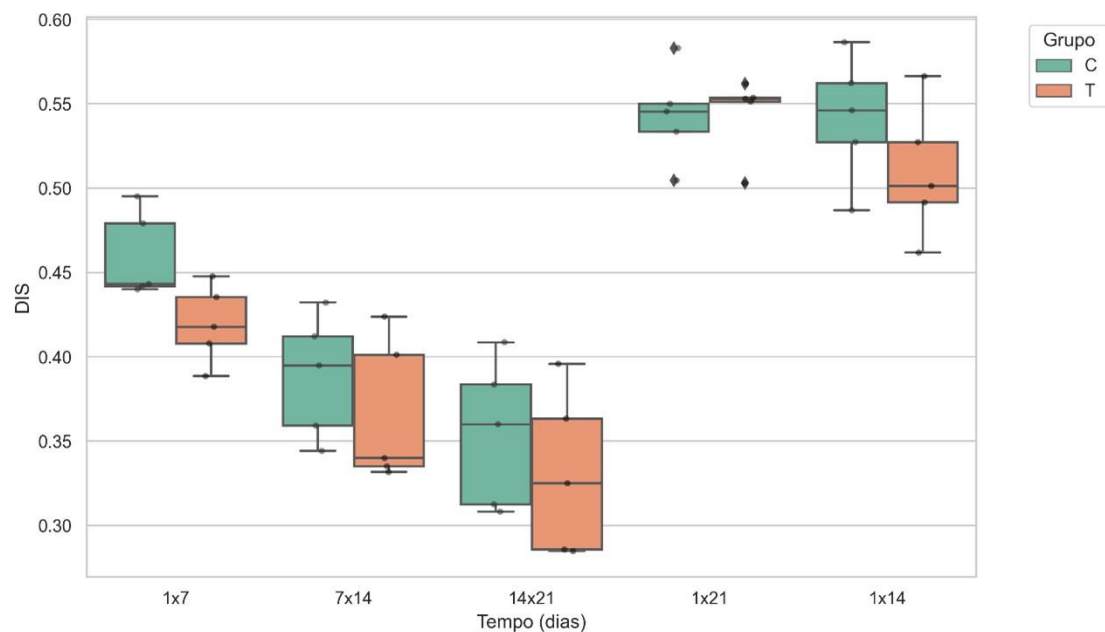
Em 7×14 dias, o controle manteve DIS intermediário (mediana $\approx 0,39$; IQR $\approx 0,36$ –0,41), e o tratamento apresentou mediana ligeiramente inferior ($\approx 0,34$) com IQR similar ($\approx 0,33$ –0,40) e um outlier em $\approx 0,43$, indicando trajetórias de mudança comparáveis, porém com pico ocasional de dissimilaridade no tratamento.

No intervalo 14×21 dias, ambos os grupos convergiram a valores menores de DIS, com o controle em mediana $\approx 0,36$ (IQR $\approx 0,31$ –0,39) e o tratamento em mediana $\approx 0,32$ (IQR $\approx 0,29$ –0,37), sem outliers, refletindo consolidação de uma composição relativamente estável.

Para 1×21 dias, o controle alcançou o valor máximo de dissimilaridade (mediana $\approx 0,54$; IQR $\approx 0,53$ –0,55) e apresentou dois outliers superiores ($\approx 0,58$ e $\approx 0,56$), enquanto o tratamento teve mediana similar ($\approx 0,55$) com IQR estreito ($\approx 0,55$ –0,56) e sem outliers, indicando forte reorganização comunitária ao longo das três semanas, especialmente no controle.

Finalmente, em 1×14 dias, o controle mostrou mediana em torno de 0,54 (IQR $\approx 0,52$ –0,56), com um outlier em $\approx 0,59$, ao passo que o tratamento apresentou mediana menor ($\approx 0,50$; IQR $\approx 0,46$ –0,53) e um outlier em $\approx 0,57$, sugerindo que, ao comparar início e meio do experimento, o tratamento promoveu mudanças moderadas, porém mais variáveis entre réplicas.

Figura 22 - Dissimilaridade total (DIS) entre tempos experimentais nos grupos controle (C) e tratamento (T). * Boxplots representando o índice de dissimilaridade total (DIS), avaliados entre dois tempos.



Fonte: De autoria própria.

O teste de normalidade de Shapiro–Wilk foi aplicado globalmente às três métricas de beta-diversidade — substituição, aninhamento e dissimilaridade total (DIS) — para verificar se os seus valores seguiriam uma distribuição aproximadamente normal (Tab. 13).

Para substituição, obteve-se estatística $W = 0,9567$ com $p\text{-valor} = 0,0650$, indicando que não rejeitamos a hipótese de normalidade ($p > 0,05$), ou seja, os valores de turnover se comportam de modo compatível com uma distribuição normal.

Já em aninhamento, o teste resultou em $W = 0,9235$ e $p\text{-valor} = 0,0032$, mostrando desvio significativo da normalidade ($p < 0,05$). Isso sugere que o grau de aninhamento não segue distribuição normal no conjunto de dados.

Por fim, para DIS, a estatística foi $W = 0,9531$ com $p\text{-valor} = 0,0459$, também apontando rejeição da normalidade ($p \approx 0,046$).

Em resumo, apenas a substituição apresentou distribuição compatível com normalidade; tanto aninhamento quanto dissimilaridade total violaram esse

pressuposto, justificando a adoção de testes não-paramétricos para todas as comparações de beta-diversidade.

PERMANOVA mostra que, considerando a composição global (distâncias de Bray–Curtis), Tratamento e Controle formam grupos distintos quando analisados no espaço multivariado (Tab. 15). Isso significa que, embora as comunidades evoluam ao longo do tempo dentro de cada condição, a principal fonte de variação composicional na matriz de distâncias é a diferença entre Tratamento e Controle, e não o tempo de submersão por si só.

Tabela 12 - Resultados da análise de variância permutacional (PERMANOVA) aplicada à matriz de distâncias de Bray–Curtis. *Valores de pseudo-F e p-valor para os efeitos do fator tratamento (controle × tinta) e do par de tempos (intervalos de submersão).

variável	pseudo-f	p-valor
tratamento	212.776	0.001
par de tempos (dias)	0.7815	0.483

Fonte: De autoria própria.

3.4 ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO

Para caracterizar a composição química da tinta natural utilizada no tratamento das cordas, aplicamos a metodologia CLUE-EMAR, que revelou a presença de diferentes classes de metabólitos (Tab. 16).

Tabela 13 - Compostos identificados na composição química da tinta natural utilizada no tratamento das cordas, segundo análise por CLUE-EMAR.

Classe	Composto	Fórmula Molecular
Flavonoide	Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆
Flavonoide	Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆
Flavonoide	Afzelechina	C ₁₅ H ₁₄ O ₅
Ácido tricarboxílico	Ácido Cítrico	C ₆ H ₈ O ₇
Ácido graxo	Ácido Subérico	C ₈ H ₁₄ O ₄
Glicosídeos fenólicos	4'-O-glucosídeo de floracetofenona	C ₁₄ H ₁₈ O ₉
Chalcona glicosilada	Flarozina	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀
Flavonoide	Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅
Glicosídeos fenólicos	Garcimangosona D	C ₁₉ H ₂₀ O ₉
Glicosídeos fenólicos	Picraquassiosídeo D	C ₁₃ H ₁₈ O ₈
Flavonoide glicosilado	3,5-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-7-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxi-2,3-dihidrocromen-4-ona	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁

(continua)

Classe	Composto	Fórmula Molecular
Glicosídeos fenólicos	Glucosídeo de ácido vanílico	C14H18O9
Fenólico	6-Gingerol	C17H26O4
Glicosídeos fenólicos	Hovetrichosídeo C	C21H22O11
Flavonoide	Procyanidina B2	C30H26O12
Flavonoide	Procyanidina B1	C30H26O12
Glicosídeo terpenico	6-O-Pentopiranosil-1-O-[(2,6,6-trimetil-1-cicloexen-1-il)carbonil]-beta-D-glucopiranosose	C21H34O11
Flavonoide prenilado	3,5,7-Trihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-8-(3-metilbut-2-enil)-2,3-dihidrocromen-4-ona	C20H20O6
Glicosídeos fenólicos	Beta-D-glucopiranosídeo, 2-feniletil 2-O-beta-D-xilopiranosil	C19H28O10
Flavonoide prenilado glicosilado	Phellamurina	C26H30O11
Flavonoide	Trímero de procyanidina (Procyanidina C1)	C45H38O18
Flavonoide	Trímero de procyanidina (Procyanidina C2)	C45H38O18
Flavonoide glicosilado	Luteolina 7-glucosídeo	C21H20O11
Glicosídeo terpenico	2-[[3,4-dihidroxi-4-(hidroximetil)oxolan-2-il]oximetil]-6-[[6,6-dimetil-2-biciclo[3.1.1]hept-2-enil]metoxi]oxano-3,4,5-triol	C21H34O10
Esteroides glicosilados	2 α ,3 β ,23-trihidroxiolean-12-en-28-oico β -D-glucopiranosil éster	C36H58O10
Glicosídeo terpenico	2,4-pentadienoico, 5-[(1R,3S,5R,8S)-3-(beta-D-glucopiranosiloxi)-8-hidroxi-1,5-dimetil-6-oxabicyclo[3.2.1]oct-8-il]-3-metil	C21H32O10
Glicosídeo terpenico	2-[[3,4-dihidroxi-4-(hidroximetil)oxolan-2-il]oximetil]-6-[[5-hidroxi-1,7,7-trimetil-2-biciclo[2.2.1]heptanil]oxi]oxano-3,4,5-triol	C21H36O11
Amida graxa	Palmitamida	C16H33NO
Dihidrochalcona	Flarotina	C15H14O5
Fenólico	3,4,5-Trimetoxifenol	C9H12O4
Glicosídeos fenólicos	Primeverosídeo de 2-feniletil	C19H28O10
Aminoácido	Ácido glutâmico	C5H9NO4
Derivado de aminoácido	Ácido pirroglutâmico	C5H7NO3
Sesquiterpeno	Iso longifolol	C15H26O
Glicosídeos fenólicos	4-O-glucosídeo de hidroxitirosol	C14H20O8
Glicosídeo terpenico	3,4,5-trihidroxi-6-[(3,4,5-trihidroxioxan-2-il)oximetil]oxan-2-il 2,6,6-trimetilcicloexeno-1-carboxilato	C21H34O11
Sesquiterpeno	Beta-eudesmol	C15H26O
Derivado de ácido graxo	Ácido jasmônico	C12H18O3
Ácido graxo	Oleamida	C18H35NO
flavonoide glicosilado	2-[[2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-3,4-dihidro-2H-cromen-3-il]oxi]-6-(hidroximetil)oxano-3,4,5-triol	C21H24O11

Fonte: De autoria própria.

(conclusão)

4 DISCUSSÃO

Redirecionamento do foco: de anti-incrustantes a modulador ecológico

A proposta inicial deste estudo era avaliar o potencial anti-incrustante da tinta tradicional utilizada pelos pescadores de Martim de Sá, baseada em relatos empíricos sobre sua capacidade de manter as redes de pesca limpas e sem limo por mais tempo. No entanto, ao aprofundar a investigação bibliográfica e etnográfica, constatou-se que a produção dessa tinta não se restringiria a uma única espécie vegetal nem àquela comunidade, sendo uma prática comum a diferentes comunidades caiçaras ao longo da Costa Verde (Borges; Peixoto, 2009; Fonseca-Krueel *et al.*, 2006; Monge, 2008; Silva, 2023). A principal característica comum entre essas tintas é a coloração avermelhada, o que levantou uma nova hipótese: seu efeito estaria mais associado a mecanismos físico-químicos e ópticos do que à ação biocida clássica.

O aprofundamento experimental confirmou que a tinta não inibiu a bioincrustação, mas a redirecionou: comunidades microbianas e organismos multicelulares, como *Perna perna*, apresentaram padrões de adesão e desenvolvimento significativamente distintos sobre substratos tratados. Esse redirecionamento pode estar relacionado à presença de compostos bioativos como flavonoides (Patil *et al.*, 2009) e taninos (Bernhoft, 2010; Ucella-Filho *et al.*, 2022) e à carga orgânica associada à tinta.

Diversidade alfa: modulação da riqueza e equitatividade

As análises de diversidade α (Observed, Chao1 e Shannon) mostraram que o tratamento promoveu uma colonização acelerada, com pico precoce de riqueza (dia 7), mas seguida de estabilização em patamares inferiores aos do controle. Esse padrão não é compatível com a expectativa clássica de um agente anti-incrustante e reforça a atuação seletiva da tinta (Gomez-Banderas, 2022).

A composição microbiana colonizadora é influenciada tanto pela química da superfície quanto pelo filme condicionante que se forma nos primeiros momentos de imersão (Dang; Lovell, 2015). Substâncias como catequina e ácido cítrico, detectadas na tinta, afetam a adesão microbiana ao influenciar diretamente a disponibilidade de nutrientes, a tensão superficial e o pH local (Książek, 2023; Vandeputte *et al.*, 2010). Flavonoides, por exemplo, possuem

ação antimicrobiana seletiva e podem impedir a dominância de certos grupos (Górniak; Bartoszewski; Króliczewski, 2019), promovendo uma equitatividade maior no início da colonização (Shannon elevado no dia 7).

Posteriormente, a estabilização dos índices no grupo tratamento sugere que a tinta impõe filtros ecológicos que mantêm comunidades específicas e limitam a entrada de novos táxons.

Diversidade beta: filtros ambientais e homogeneização comunitária

As análises de diversidade β revelaram que, embora os testes univariados não tenham identificado diferenças significativas entre grupos em cada intervalo de tempo, a PERMANOVA mostrou um efeito global robusto do tratamento sobre a estrutura da comunidade. Isso indica que a tinta tradicional induziu trajetórias de colonização distintas e mais homogêneas ao longo do tempo.

Substituição e aninhamento indicaram, respectivamente, uma substituição limitada de espécies e um aumento progressivo da previsibilidade comunitária no grupo tratamento. A dissimilaridade total entre tempos (DIS), por sua vez, mostrou-se mais estável nos substratos tratados, enquanto o controle apresentou maiores *outliers*, sugerindo trajetórias mais estocásticas de sucessão ecológica. Esses resultados apontam para a existência de um "efeito de filtro" promovido pela tinta, que direciona a seleção ecológica desde os primeiros dias.

Fixação de bissos: substrato transformado em interface bioindutora

Os testes com *Perna perna* reforçaram que o tratamento não atuou como repelente, mas como indutor de fixação. A taxa de adesão de bissos foi significativamente maior em filtros tratados, atingindo valores semelhantes ao substrato naturalmente preferido (outro mexilhão), enquanto o filtro controle foi o menos atrativo. A interação significativa entre tratamento e tipo de substrato confirma que o efeito da tinta depende diretamente da superfície.

Esses achados podem ser explicados pela presença de biofilme microbiano mais denso e funcional sobre os substratos tratados, que atuaria como interface bioquímica indutora da fixação de bissos. Estudos anteriores demonstram que certos perfis microbianos ou compostos dissolvidos associados

ao biofilme são capazes de desencadear comportamento adesivo em mexilhões (Li *et al.*, 2022).

Valor biotecnológico e reconhecimento do valor cultural

Os resultados obtidos abrem perspectivas para o uso da tinta como modulador ecológico e não como anti-incrustante clássico. Em sistemas de aquicultura, superfícies tratadas poderiam ser empregadas para induzir colonização específica de biofilmes funcionais. Na pesca artesanal, a tinta pode atuar como componente ativo da rede, influenciando desde o recrutamento larval até o comportamento de cardumes.

Contudo, é fundamental reconhecer que a relevância dessa tinta vai muito além de sua utilidade biotecnológica. Trata-se de um elemento profundamente enraizado no modo de vida caiçara, com valor cultural intrínseco, como demonstrado nas conversas com Paulo Henrique. A prática de tingimento das redes é carregada de significados simbólicos, memórias e tradições, compondo um saber-fazer transmitido geracionalmente. Assim, qualquer tentativa de reaproveitamento tecnológico dessa tinta deve considerar, de forma ética e respeitosa, os direitos culturais e o protagonismo das comunidades que a criaram e a mantêm viva.

Além disso, é importante destacar que os experimentos deste estudo foram realizados com uma tinta reproduzida em laboratório, baseada nas instruções dos pescadores, mas não necessariamente idêntica à formulação tradicional. Tampouco foram conduzidos no mesmo ambiente ecológico onde os caiçaras utilizam suas redes, o que limita a extensão direta dos resultados para a prática pesqueira tradicional. Portanto, a generalização dos efeitos observados requer validação em condições reais de uso.

Limitações e perspectivas futuras

Entre as limitações metodológicas, destaca-se a ausência de análises de microscopia eletrônica diretamente nos substratos dos testes de fixação de biscoitos. A impossibilidade de coletar a planta em fase reprodutiva impediu a identificação botânica completa, e todos os experimentos foram realizados com

tinta reproduzida em laboratório, o que limita a generalização dos resultados para as tintas tradicionais produzidas diretamente pelas comunidades.

Futuras pesquisas devem:

1. Comparar tintas produzidas integralmente em campo com aquelas reproduzidas em laboratório; 2. Realizar ensaios de captura com redes tratadas em condições reais de pesca; 3. Avaliar a atratividade da tinta a peixes em experimentos comportamentais; 4. Integrar análises ópticas, de superfície (MEV) e metagenômicas dos biofilmes; 5. Investigar as propriedades bioquímicas da tinta em diferentes fases fenológicas da planta.

Em síntese, este estudo evidenciou o potencial da tinta tradicional caiçara como ferramenta biotecnológica de base ecológica e cultural, ressaltando a importância de integrar saberes tradicionais com abordagens experimentais para o desenvolvimento de soluções inovadoras em sustentabilidade marinha.

5 CONCLUSÃO

Este estudo investigou os efeitos da aplicação de uma tinta tradicional, reproduzida a partir de conhecimentos caiçaras de Martim de Sá, sobre a colonização microbiana, a estrutura de biofilmes e a fixação de biscoitos por *Perna perna* em substratos submersos. Embora inicialmente concebido como uma avaliação do potencial anti-incrustante da tinta, os resultados indicaram que seu papel vai além da simples inibição biológica, atuando como um modulador seletivo da colonização ecológica e da dinâmica sucessional de comunidades biológicas incrustantes.

As análises de diversidade alfa revelaram que a tinta promove uma colonização precoce e intensa, com posterior estabilização e possível exclusão de táxons menos adaptados, sugerindo a ação de filtros ambientais químicos. A diversidade beta confirmou que os substratos tratados seguem trajetórias mais homogêneas e previsíveis de sucessão, com alterações globais na composição microbiana. A maior fixação de biscoitos em filtros tratados, especialmente em comparação ao controle, reforça a hipótese de que a tinta não apenas modifica a superfície fisicamente, mas também influencia biologicamente os organismos, potencialmente via biofilmes formados ou compostos bioativos liberados.

Contudo, os efeitos observados não podem ser interpretados exclusivamente sob uma ótica laboratorial ou biotecnológica. A tinta estudada possui um valor simbólico e cultural profundo para os pescadores caiçaras, sendo parte de um saber-fazer ancestral transmitido entre gerações. O uso da tinta carrega significados que transcendem a função utilitária, como destacado nas entrevistas realizadas, especialmente com Paulo Henrique, e deve ser tratado com o devido reconhecimento e respeito. Além disso, os experimentos aqui relatados utilizaram uma versão laboratorial da tinta, em ambientes distintos daqueles nos quais ela é tradicionalmente aplicada, o que impõe limites à generalização dos resultados.

Dessa forma, este trabalho contribui não apenas com evidências sobre a ação ecológica de compostos naturais em ambientes marinhos, mas também com uma reflexão sobre a importância de integrar o conhecimento tradicional aos processos científicos. O diálogo entre ciência e cultura se mostra essencial para o desenvolvimento de tecnologias verdadeiramente sustentáveis, ancoradas no respeito às comunidades detentoras dos saberes originais. Investigações futuras devem, portanto, ampliar a escala dos testes, incluir ambientes reais de uso e assegurar a participação ativa das comunidades em todas as etapas do processo científico.

Referências

APARECIDA, Maria *et al.* CONHECIMENTOS TRADICIONAIS COMO EXPRESSÃO DA TERRITORIALIDADE: O CASO DA COMUNIDADE CAIÇARA DO SACO DO MAMANGUÁ, PARATY, RJ. , 2013.

BADOLA, Srishti *et al.* Haunting the Ganges: addressing the issues of ghost gear in the Ganga River through an incentive-based institutional mechanism. **Frontiers in Conservation Science**, v. 5, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/conservation-science/articles/10.3389/fcosc.2024.1341434/full>. Acesso em: 21 jul. 2025.

BATISTA, Vandick S. *et al.* Tropical Artisanal Coastal Fisheries: Challenges and Future Directions. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 1–15, 2014.

BEGOSSI, Alpina. O CERCO FLUTUANTE E OS CAIÇARAS DO LITORAL NORTE DE SÃO PAULO, COM ÊNFASE À PESCA DE TRINDADE, RJ. **Interciencia**, [s. l.], v. 36, n. 11, p. 803–807, 2011.

BERNHOF, Aksel. A brief review on bioactive compounds in plants. **Bioactive compounds in plants- benefits and risks for man and animals**, Venezuela, p. 11–17, 2010.

BORGES, Rodrigo; PEIXOTO, Ariane Luna. Conhecimento e uso de plantas em uma comunidade caiçara do litoral sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 769–779, 2009.

BOUDA, Abderrahmane *et al.* Risk Analysis of Invasive Species Introduction in the Port of Arzew, by Calculation of Biofouling Surface on Ships' Hulls. **Environmental Modeling & Assessment**, v. 23, n. 2, p. 185–192, 2018.

BRASIL. Presidência da República. Regulamenta o art. 225, § 1o, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, n. LEI No 9.985, DE 18 DE JULHO DE 2000., 18 jul. 2000. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9985.htm. Acesso em: 14 jan. 2025.

CAO, Shan *et al.* Progress of marine biofouling and antifouling technologies. **Chinese Science Bulletin**, v. 56, n. 7, p. 598–612, 2011.

CHAMP, Michael A. Economic and environmental impacts on ports and harbors from the convention to ban harmful marine anti-fouling systems. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 8, p. 935–940, 2003.

CHEN, Liren *et al.* Biomimetic surface coatings for marine antifouling: Natural antifoulants, synthetic polymers and surface microtopography. **Science of The Total Environment**, v. 766, p. 144469, 2021.

CLARE, Anthony S. Marine natural product antifoulants: Status and potential. **Biofouling**, v. 9, n. 3, p. 211–229, 1996.

COX, Paul Alan. Ethnopharmacology and the Search for New Drugs. *In*: CIBA FOUNDATION SYMPOSIUM 154 - BIOACTIVE COMPOUNDS FROM PLANTS: John Wiley & Sons, Ltd, 2007. p. 40–55. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470514009.ch4>. Acesso em: 26 mar. 2025.

DA GAMA, Bernardo A P *et al.* Is the Mussel Test a good Indicator of Antifouling Activity? A Comparison Between Laboratory and Field Assays. **Biofouling**, v. 19, n. sup1, p. 161–169, 2003.

DANG, Hongyue; LOVELL, Charles R. Microbial Surface Colonization and Biofilm Development in Marine Environments. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 1, p. 91–138, 2015.

DO, Huu-Luat; ARMSTRONG, Claire W. Ghost fishing gear and their effect on ecosystem services – Identification and knowledge gaps. **Marine Policy**, v. 150, p. 105528, 2023.

DORIA, Carolina Rodrigues da Costa *et al.* Grandes hidrelétricas na Amazônia: impactos no recurso pesqueiro e na pesca artesanal, desafios e lições aprendidas na bacia do Rio Madeira. **REVISTA CIÊNCIAS DA SOCIEDADE**, v. 2, n. 4, p. 79–106, 2018.

DORIA, Carolina Rodrigues da Costa *et al.* O uso do conhecimento ecológico tradicional de pescadores no diagnóstico dos recursos pesqueiros em áreas de implantação de grandes empreendimentos. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 30, 2014. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/made/article/view/34196>. Acesso em: 25 mar. 2025.

DUTFIELD, Graham. Opinion: Why Traditional Knowledge is Important in Drug Discovery. **Future Medicinal Chemistry**, v. 2, n. 9, p. 1405–1409, 2010.

FARKAS, Andrea *et al.* Greenhouse gas emissions reduction potential by using antifouling coatings in a maritime transport industry. **Journal of Cleaner Production**, v. 295, p. 126428, 2021.

FITRIDGE, Isla *et al.* The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. **Biofouling**, v. 28, n. 7, p. 649–669, 2012.

FONSECA-KRUEL, Viviane *et al.* **Plantas úteis da Restinga: O saber dos pescadores artesanais de arraial do cabo, Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <https://biologiavegetal.com.br/guias-de-campos/plantas-uteis-da-restinga-o-saber-dos-pescadores-artesanais-de-arraial-do-cabo-rio-de-janeiro/>. Acesso em: 31 maio 2025.

FRENCH, Jonathan A. Control Seawater Intake Biofouling. **Oceanography & Fisheries Open access Journal**, Boston, v. 15, n. 3, p. 001–005, 2022.

GOMEZ-BANDERAS, Jessica. Marine Natural Products: A Promising Source of Environmentally Friendly Antifouling Agents for the Maritime Industries.

Frontiers in Marine Science v. 9, 2022. Disponível em:
<https://www.frontiersin.org/journals/marine-science/articles/10.3389/fmars.2022.858757/full>. Acesso em: 27 maio 2025.

GÓRNIAK, Ireneusz; BARTOSZEWSKI, Rafał; KRÓLICHEWSKI, Jarosław. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 18, n. 1, p. 241–272, 2019.

GRANZOTTO, A. *et al.* Comparison between artisanal and industrial fisheries using ecosystem indicators. **Chemistry and Ecology**, v. 20, n. sup1, p. 435–449, 2004.

HANAZAKI, Natalia. Comunidades, conservação e manejo: o papel do conhecimento ecológico local. **Biotemas**, v. 16, n. 1, p. 23–47, 2003.

HOPKINS, Grant *et al.* Managing Biofouling on Submerged Static Artificial Structures in the Marine Environment – Assessment of Current and Emerging Approaches. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, 2021. Disponível em:
<https://www.frontiersin.org/journals/marine-science/articles/10.3389/fmars.2021.759194/full>. Acesso em: 20 mar. 2025.

INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. **Reserva ecológica estadual da Juatinga: Atrativos**. 2017a. Disponível em:
<http://parquesestaduais.inea.rj.gov.br/Atrativos>. Acesso em: 14 jan. 2025.

INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. **Reserva Ecológica Estadual da Juatinga: Sobre o Parque**. 2017b. Disponível em:
<http://parquesestaduais.inea.rj.gov.br/www.inea.rj.gov.br/visiteparquesestaduais>. Acesso em: 14 jan. 2025.

INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL. **Reserva Ecológica da Juatinga**. Disponível em: <https://uc.socioambiental.org/pt-br/arp/1001>. Acesso em: 14 jan. 2025.

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. **Reporting and retrieval of lost fishing gear: recommendations for developing effective programmes**: FAO, 2022. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb8067en>. Acesso em: 21 jul. 2025.

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. **RESOLUTION MEPC.378(80) (adopted on 7 July 2023): 2023 Guidelines for the Control and Management of Ships' Biofouling to Minimize the Transfer of Invasive Aquatic Species**. London: International Maritime Organization, 2024. Disponível em: <https://imo-epublications.org/content/books/9789280117783>. Acesso em: 26 fev. 2025.

IPHAN - INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL. **História - Paraty (RJ)**. 2014. Disponível em:
<http://portal.iphan.gov.br/pagina/detalhes/1510/>. Acesso em: 11 mar. 2025.

KSIAŻEK, Ewelina. Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries. **Molecules**, v. 29, n. 1, p. 22, 2023.

LAKRETZ, Anat *et al.* Biofouling control by UV/H₂O₂ pretreatment for brackish water reverse osmosis process. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v. 4, n. 9, p. 1331–1344, 2018.

LI, Jiazheng *et al.* Impact of different enzymes on biofilm formation and mussel settlement. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 4685, 2022.

LONG, Yin *et al.* Effective anti-biofouling enabled by surface electric disturbance from water wave-driven nanogenerator. **Nano Energy**, v. 57, p. 558–565, 2019.

MARQUES, José Geraldo W. ETNOICTIOLOGIA: PESCANDO PESCADORES NAS ÁGUAS DA TRANSDICCIPLINARIDADE. **Revista Ouricuri**, v. 2, n. 2, p. 009–038, 2012.

MARTINS, Papu Ricardo. “NASCIDO E CRIADO”: A OCUPAÇÃO TRADICIONAL DA FAMÍLIA DOS REMÉDIOS, UMA COMUNIDADE “CAIÇARA” – PENÍNSULA DA JUATINGA, MUNICÍPIO DE PARATY/RJ Niterói. **Monge, Ricardo Papu Martins**, 2012. Disponível em: https://www.academia.edu/2954810/_NASCIDO_E_CRIADO_A_OCUPA%C3%87%C3%83O_TRADICIONAL_DA_FAM%C3%8DLIA_DOS_REM%C3%89DIO_S_UMA_COMUNIDADE_CAI%C3%87ARA_PEN%C3%8DNSULA_DA_JUATINGA_MUNIC%C3%8DPPIO_DE_PARATY_RJ_Niter%C3%B3i. Acesso em: 21 jan. 2025.

MONGE, Ricardo Papu Martins. “Nascido e criado”: A ocupação tradicional da família dos Remédios, uma comunidade “caiçara” - Península da Juatinga, Município de Paraty/RJ. 2012. 173 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Ambiental) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012. Disponível em: https://www.academia.edu/2954810/_NASCIDO_E_CRIADO_A_OCUPA%C3%87%C3%83O_TRADICIONAL_DA_FAM%C3%8DLIA_DOS_REM%C3%89DIO_S_UMA_COMUNIDADE_CAI%C3%87ARA_PEN%C3%8DNSULA_DA_JUATINGA_MUNIC%C3%8DPPIO_DE_PARATY_RJ_Niter%C3%B3i. Acesso em: 27 maio 2024.

MONGE, Ricardo Papu Martins. **Pesca com rede de cerco flutuante na Reserva Ecológica da Juatinga (REJ), Município de Paraty/RJ**. 2008. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, 2008. Disponível em: Acesso em: 27 maio 2024.

MONGE, Ricardo Papu Martins; LOBÃO, Ronaldo; DI MAIO, Angelica. Recategorização Da Reserva Ecológica Da Juatinga Suas Diferentes Territorialidades. **Áreas Protegidas e Inclusão Social: tendências e perspectivas**, v. 6, n. 1, 2013. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/240588172/Recategorizacao-Da-Reserva-Ecologica-Da-Juatinga-Suas-Diferentes-Territorialidades-Vi-Sapis>. Acesso em: 14 jan. 2025.

NANDAKUMAR, Kanavillil; YANO, Tetsuo. Biofouling and Its Prevention: A Comprehensive Overview. **Biocontrol Science**, v. 8, n. 4, p. 133–144, 2003.

OLIVEIRA, Olga Maria Boschi Aguiar de; SILVA, Vera Lúcia da. O processo de industrialização do setor pesqueiro e a desestruturação da pesca artesanal no Brasil a partir do Código de Pesca de 1967. **Sequência (Florianópolis)**, p. 329–357, 2012.

O'NEILL, Thomas B; ILCOX, W. The Formation of a "Primary Film" on Materials Submerged in the Sea at Port Hueneme, California. **STEE L**, v. 25, 1971.

OWEN, Richard *et al.* Inhibition of coral photosynthesis by the antifouling herbicide Irgarol 1051. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 7, p. 623–632, 2002.

PATIL, Bhimanagouda S. *et al.* Bioactive Compounds: Historical Perspectives, Opportunities, and Challenges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8142–8160, 2009.

PAULA, Cristiano Quaresma de. **Geografia(s) da pesca artesanal brasileira**. 2018. Doutorado em Geografia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/178869>. Acesso em: 24 mar. 2025.

QIAN, P.-Y. *et al.* Marine Biofilms as Mediators of Colonization by Marine Macroorganisms: Implications for Antifouling and Aquaculture. **Marine Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 399–410, 2007.

ROUSSEAU, Yannick *et al.* Defining global artisanal fisheries. **Marine Policy**, v. 108, p. 103634, 2019.

SANTOS, Marco Pais Neves dos *et al.* A pesca enquanto atividade humana: pesca artesanal e sustentabilidade, v. 12, n. 4, p. 405–427, 2012.

SECKENDORFF, Roberto; AZEVEDO, Venancio; MARTINS, Josef. SOBRE A TÉCNICA CONSTRUTIVA DA ARTE DE PESCA DE CERCO-FLUTUANTE NO LITORAL NORTE DE SÃO PAULO, BRASIL, 2009.

SELIM, Mohamed S. *et al.* Progress in biomimetic leverages for marine antifouling using nanocomposite coatings. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 8, n. 17, p. 3701–3732, 2020.

SILVA, José Carlos da. **As Geograficidades e Historicidades Tradicionais Caiçaras em Cajaíba, Paraty – RJ**. 2023. Doutorado em História Social - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <https://www.bdtd.uerj.br:8443/handle/1/20246>. Acesso em: 27 maio 2025.

SRINIVASAN, Mridula; SWAIN, Geoffrey W. Managing the Use of Copper-Based Antifouling Paints. **Environmental Management**, v. 39, n. 3, p. 423–441, 2007.

TOWNSIN, R L. The Ship Hull Fouling Penalty. **Biofouling**, v. 19, n. sup1, p. 9–15, 2003.

UCELLA-FILHO, João Gilberto Meza *et al.* Tannin-rich bark extract of plants as a source of antimicrobial bioactive compounds: A bibliometric analysis. **South African Journal of Botany**, v. 150, p. 1038–1050, 2022.

VANDEPUTTE, Olivier *et al.* Identification of Catechin as One of the Flavonoids from Combretum albiflorum Bark Extract That Reduces the Production of Quorum-Sensing-Controlled Virulence Factors in Pseudomonas aeruginosa PAO1. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, p. 243–53, 2010.

VARELLO, Roberta *et al.* Behavioural Responses to Ultrasound Antifouling Systems by Adult Solitary Ascidians. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 11, n. 6, p. 1115, 2023.

VIDAL, Luciano. **Requerimento nº 097/2013**: Câmara Municipal de Paraty, 2013. Disponível em: <https://paraty.rj.leg.br/site/>. Acesso em: 31 maio 2025.

WAHL, Martin. Marine Epibiosis .1. Fouling and Antifouling - Some Basic Aspects. **Marine Ecology Progress Series**, v. 58, p. 175–189, 1989.

XAVIER, Thomaz; GORAYEB, Adryane; BRANNSTROM, Christian. Energia eólica offshore e pesca artesanal: impactos e desafios na costa oeste do Ceará, Brasil. *In*: GEOGRAFIA MARINHA: OCEANOS E COSTAS NA PERSPECTIVA DE GEÓGRAFOS. 1. ed. Rio de Janeiro: 2020. p. 608–630.

YAN, Hao *et al.* Recent Progress of Biomimetic Antifouling Surfaces in Marine. **Advanced Materials Interfaces**, v. 7, n. 20, p. 2000966, 2020.

ZHOU, Lin *et al.* An Overview of Antifouling Strategies for Electrochemical Analysis. **Electroanalysis**, v. 34, n. 6, p. 966–975, 2022.

Data: 08 de novembro de 2023

Local: Martim de Sá, Paraty (RJ), Brasil

Entrevistadoras: Giovana da Rocha Rodrigues & Juliana Ferrari
(pesquisadoras)

Entrevistado: Paulo Henrique Remédios (pescador caiçara, líder comunitário)

Formato: Entrevista oral; transcrição revisada quanto à gramática, preservando a oralidade e o sentido original das falas.

Pesquisadoras: Qual é a origem da técnica? Veio de quem?

Paulo Henrique Remédios: Essa técnica vem, como eu falei pra vocês, desde a época do meu avô, que já mexia com rede. Então ele falava: "Como vamos fazer pra tingir rede?" Aí, não sei de onde veio a ideia, só sei que disseram que a árvore era essencial pra isso. E aí seguimos com isso até hoje, passando de geração pra geração.

Pesquisadoras: Então, quem te ensinou foi seu pai?

Paulo Henrique Remédios: Isso mesmo.

Pesquisadoras: E há quanto tempo vocês usam essa técnica?

Paulo Henrique Remédios: Olha, eu tenho 44 anos. Só eu já uso há esse tempo todo. Mas vem da época do meu pai, do meu avô... Imagina só. Já tem bastante tempo.

Pesquisadoras: Você acha que começou com seu avô? Ou alguém ensinou seu avô?

Paulo Henrique Remédios: Bem antes do meu avô. Porque, como meu pai ia aprender isso se meu avô não tivesse passado pra ele? A gente fica pensando e não sabe de onde realmente começou.

Pesquisadoras: E qual planta vocês usam?

Paulo Henrique Remédios: Pode ser mangue, tiguia ou quaresma.

Pesquisadoras: E qual parte da planta?

Paulo Henrique Remédios: A casca.

Pesquisadoras: E como vocês fazem o processo?

Paulo Henrique Remédios: Então, o processo é assim: você tira a casca, traz, soca ela, ou então deixa de molho de um dia pro outro. Depois bota no tacho — não sei como vocês chamam na cidade, mas pra gente aqui é tacho mesmo. Aí coloca o material e acende o fogo, deixa ferver até chegar no ponto. Depois tira, coloca na canoa e passa a rede.

Pesquisadoras: É a casca toda ou só aquela parte vermelha de dentro?

Paulo Henrique Remédios: A casca toda, do jeito que eu tirei pra vocês.

Pesquisadoras: E por quanto tempo ela fica de molho na água?

Paulo Henrique Remédios: Se tiver muito seca, é bom deixar desde o dia anterior. Tipo carne salgada que a gente dessalga. Deixa no molho pra no outro dia cozinhar.

Pesquisadoras: E no tacho, ela cozinha por quanto tempo?

Paulo Henrique Remédios: Olha, pra ficar boa mesmo, a gente coloca de manhã. O tacho que usamos pega 200 litros de água. Se começar a ferver por volta de 9h, a gente vai tirar só lá pelas 14h.

Pesquisadoras: A quantidade de água é só pra cobrir?

Paulo Henrique Remédios: A gente usa um galão de 200 litros com 20 quilos de casca. O resto é água. Começamos com pouca água pra ferver mais rápido, depois vamos acrescentando mais até ficar bem encorpado em cima.

Pesquisadoras: E quanto tempo a rede fica de molho?

Paulo Henrique Remédios: Uns 3 minutos já é suficiente. Depois escorre um pouco pra não ficar muito encharcada, estende no sol, seca, e aí pode colocar na água. A gente costuma tingir de tarde e no outro dia já está seca pra ir pra

água. Não pode deixar muito tempo guardada depois de tingida, senão resseca e a tinta sai.

Pesquisadoras: Essa tinta só funciona na rede de cerco?

Paulo Henrique Remédios: Sim.

Pesquisadoras: E quando coloca na água, a tinta não solta?

Paulo Henrique Remédios: Não.

Pesquisadoras: A água não fica vermelha?

Paulo Henrique Remédios: Não, não. A rede sim, mas a água não.

Pesquisadoras: Essa tinta já foi usada em outro material?

Paulo Henrique Remédios: Não, só na rede mesmo.

Pesquisadoras: Nunca testaram em outra coisa?

Paulo Henrique Remédios: Não.

Pesquisadoras: E quanto tempo leva todo o processo? Desde o preparo da tinta até a rede secar?

Paulo Henrique Remédios: Um dia. Dá pra fazer tudo isso em um dia.

Pesquisadoras: E com 20 quilos de casca, quanto rende?

Paulo Henrique Remédios: Então, dá os 200 litros de água. A casca cozida não serve mais depois, porque perde a “sica”, perde a força. Tem que fazer tudo novo.

Pesquisadoras: E isso dá pra quanto de rede?

Paulo Henrique Remédios: Nós tínhamos uns 300 metros de rede. Você mergulha a rede na tinta dentro da canoa, ela absorve, depois escorre, e você vai reaproveitando a tinta que escorre pra tingir o resto.

Pesquisadoras: Qual a importância dessa tinta pra vocês?

Paulo Henrique Remédios: Agora você me pegou (risos). A importância é grande. Se você fica três meses com a mesma rede, o fio vai ficando branco e para de pescar bem. Com a tinta, a rede escurece e o peixe frequenta mais. Não sei explicar, mas funciona.

Pesquisadoras: Ela disfarça a rede?

Paulo Henrique Remédios: Sim. Porque a rede fica muitos dias na água, pescando no mesmo lugar. A gente pesca com ela por doze dias direto, quatro visitas por dia. Com o tempo, junta lodo e a rede começa a refletir luz, aí o peixe vê mais. Aí tem que tirar, lavar, secar e preparar de novo.

Pesquisadoras: E reutiliza a rede?

Paulo Henrique Remédios: Sim. Uns dois, três meses com a mesma tinta.

Pesquisadoras: E vocês sempre usam rede de seda? Não usam nylon?

Paulo Henrique Remédios: Isso. A rede de cerco a gente faz com fio de seda, que é mais forte que o de nylon. Porque, se for usar nylon, ele tem que ser grosso, e isso pega muito volume de água. Não serve pra esse tipo de pesca.

Pesquisadoras: Essa tinta já foi comercializada ou é só pra uso próprio?

Paulo Henrique Remédios: Só usamos entre os caiçaras mesmo, que pescam com esse tipo de rede.

Pesquisadoras: É isso. Muito obrigada!