

**Variação biométrica e bioquímica dos tecidos de *Phyllorhiza punctata* (von Lendenfeld, 1884) sob diferentes regimes de
iluminação**

Raissa Nunes Cerqueira

**Variação biométrica e bioquímica dos tecidos de *Phyllorhiza punctata* (von Lendenfeld, 1884) sob diferentes regimes de
iluminação**

Raissa Nunes Cerqueira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Biotecnologia dos Recursos Marinhos

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Doutora Marta Maria de Melo Lopes Neves e
co-orientação da Doutora Sónia Cristina Ferreira Cotrim Marques

2026

Título: Variação biométrica e bioquímica dos tecidos de *Phyllorhiza punctata* (von Lendenfeld, 1884) sob diferentes regimes de iluminação

Copyright © Raissa Nunes Cerqueira

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche Instituto Politécnico de Leiria

2026

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação/trabalho de projeto/relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Esta dissertação foi uma travessia profissional e pessoal, que não seria possível realizar sozinha.

À minha família, tias (o), primas (o), madrinha e, em especial, minha mãe Maria Helena, ao meu pai Romildo, ao meu irmão Horácio Vinicius, sua esposa Lid e meu sobrinho Lorenzo. Ao Mikael e as minhas amigas Gabrielle, Marina, Calil, Ayala, Hellen, Lara e Mateus.

Gostaria de agradecer também à minha orientadora, professora doutora Marta Neves e à coorientadora professora doutora Sónia Cotrim, ambas profissionais inspiradoras, que me guiaram com autoridade serena e muito apoio ao longo desta investigação.

À Joana, supervisora do laboratório, mestra também em partilhar seus conhecimentos. Aos meus parceiros de laboratório Daniel e, em especial, Leonor, à Inês, Jéssica, ao professor Sérgio, aos nossos estagiários Pedro e Salvador.

Aos meus colegas do curso de mestrado em Biotecnologia dos Recursos Marinhos.

Ao Instituto Politécnico de Leiria e ao CETEMARES, bem como a todo o seu corpo docente e de colaboradores.

À espécie *Phyllorhiza punctata*, sobretudo às que fizeram parte deste trabalho.

A todas as pessoas que não mencionei e que, de alguma forma, fizeram parte do meu percurso profissional e pessoal.

Gratidão.

Resumo

A medusa *Phyllorhiza punctata* desperta interesse crescente no contexto da biotecnologia marinha devido à sua composição bioquímica e potencial fonte de compostos bioativos. Nesta investigação, avaliou-se o impacto do fotoperíodo (regimes de iluminação) na variação biométrica, composição bioquímica e perfil lipídico desta espécie, cultivada em condições controladas de laboratório. Foram aplicados dois regimes de luz (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua), sendo analisadas diferentes frações anatómicas (campânula, braços orais e muco).

Os resultados demonstraram que o fotoperíodo não influenciou significativamente o crescimento estrutural, avaliado pelo diâmetro da campânula. No entanto, observou-se um aumento significativo da massa fresca sob iluminação contínua, indicando uma melhoria da condição corporal sem alteração do tamanho. A composição bioquímica demonstrou diferenças entre frações, com maiores teores de proteína e colagénio nos braços orais, enquanto o muco apresentou maior conteúdo de humidade e cinzas.

No perfil de ácidos gordos, verificou-se o predomínio de ácidos gordos saturados, especialmente nos braços orais, enquanto a campânula apresentou maiores proporções de ácidos gordos polinsaturados e da série n-3. A exposição à luz contínua esteve associada a uma redução destes compostos, sugerindo possíveis efeitos de stress oxidativo e alterações no metabolismo lipídico.

De forma geral, os resultados indicam que o fotoperíodo atua como um fator modulador da biomassa e da composição bioquímica de *P. punctata*, promovendo maior acumulação de massa sob luz contínua, mas potencialmente comprometendo a qualidade bioquímica. Estes resultados reforçam o potencial desta espécie como recurso biotecnológico, evidenciando a importância da otimização das condições de cultivo para maximizar a produção de compostos de interesse.

Palavras chave: Biotecnologia marinha, *Phyllorhiza punctata*, fotoperíodo, composição bioquímica, ácidos gordos.

Abstract

The jellyfish *Phyllorhiza punctata* is attracting growing interest in the field of marine biotechnology due to its biochemical composition and potential as a source of bioactive compounds. In this study, we evaluated the impact of photoperiod on the biometric variation, biochemical composition, and lipid profile of this species, cultured under controlled laboratory conditions. Two light regimes were applied (12 h light : 12 h dark and 24 h continuous light), and different anatomical fractions (bell, oral arms, and mucus) were analyzed.

The results demonstrated that the photoperiod did not significantly influence structural growth, as assessed by bell diameter. However, a significant increase in fresh weight was observed under continuous illumination, indicating an improvement in body condition without a change in size. The biochemical composition showed differences between fractions, with higher protein and collagen contents in the oral arms, while the mucus had higher moisture and ash contents.

In the fatty acid profile, saturated fatty acids predominated, especially in the oral arms, while the bell showed higher proportions of polyunsaturated and n-3 fatty acids. Exposure to continuous light was associated with a reduction in these compounds, suggesting possible effects of oxidative stress and alterations in lipid metabolism. Overall, the results indicate that photoperiod acts as a modulating factor for biomass and composition.

Keywords: Marine biotechnology, *Phyllorhiza punctata*, photoperiod, biochemical composition, fatty acids.

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento teórico.....	1
1.1.1 Biotecnologia marinha e diversidade bioquímica dos organismos marinhos.....	1
1.1.2 Biotecnologia marinha e principais classes de compostos.....	2
1.1.3 O potencial dos cnidários como recursos biotecnológicos.....	3
1.1.4 Medusas: constituição bioquímica e aplicações.....	4
1.1.5 Phyllorhiza punctata: biologia e interesse biotecnológico.....	6
1.1.6 Luz/zooxantelas e impacto no metabolismo.....	8
1.2 Objetivos do estudo.....	9
2. Material e Métodos.....	9
2.1 Cultivos Auxiliares.....	9
2.1.1 Cultivo de Artémia (<i>Artemia franciscana</i>).....	9
2.1.2 Cultivo de Rotíferos.....	11
2.2 Manutenção e cultivo de <i>Phyllorhiza punctata</i> para produção de biomassa.....	11
2.2.1 Pólipos <i>Phyllorhiza punctata</i>	11
2.2.2 Estrobilação <i>Phyllorhiza punctata</i>	12
2.2.3 Éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	13
2.2.4 Pós-éfiras e medusas juvenis de <i>Phyllorhiza punctata</i>	14
2.3 Desenho Experimental.....	15
2.4 Preparação das amostras.....	17
2.4.1 Dados Biométricos.....	17
2.5 Caracterização bioquímica.....	20
2.5.1 Quantificação de proteína.....	20
2.5.2 Quantificação do teor de colagénio.....	22
2.5.3 Quantificação da cinza.....	23
2.5.4 Análise para determinação do perfil de ácidos gordos – análise por GC-FID.....	24
2.6 Análise estatística.....	26
3. Resultados.....	27
3.1 Dados biométricos: Análise individual.....	27
3.1.1 Massa fresca (MF, g/ind).....	31
3.1.2 Massa seca (MS, g/ind).....	32
3.2 Composição bioquímica.....	33
3.2.1 Humidade (%).....	33
3.2.2 Proteína (%).....	34
3.2.3 Colagénio (%).....	35
3.2.4 Cinza (%).....	36
3.2.5 Perfil de ácidos gordos.....	37
3.2.6 Teor absoluto de ácidos gordos (total fatty acids - µg/mg).....	41
4. Discussão.....	49
Dados biométricos.....	49

Diâmetro.....	49
Massa fresca.....	50
Massa seca.....	51
Composição bioquímica.....	52
Humidade.....	52
Proteína.....	53
Colagénio.....	54
Cinza.....	54
5. Conclusão.....	64
6. Referências Bibliográficas.....	67

Índice de Figuras

Figura 1. Representação esquemática do ciclo de vida de <i>Phyllorhiza punctata</i> , incluindo as fases de pólipo, estrobilação, éfira, medusa juvenil e medusa adulta. Fonte: Adaptado de Purcell et al. 2013, por Roso, 2022.....	7
Figura 2. Distribuição conhecida da espécie <i>Phyllorhiza punctata</i> . Distribuição global: área nativa (azul), não- nativa (vermelho) e criptogênico (amarelo). (Fonte: Smithsonian Environmental Research Center's National Estuarine and Marine Exotic Species Information System, NEMESIS)...	8
Figura 3. (A) Garrafas de eclosão das artêmias, (B) Processo de remoção dos cistos com auxílio do íman.....	10
Figura 4. Cultivo de rotíferos.....	11
Figura 5. (A) Aquário de cultivo contendo colônia de pólipos de <i>Phyllorhiza punctata</i> mantida em condições controladas de laboratório. (B) Pólipo individual de <i>Phyllorhiza punctata</i> evidenciando a morfologia típica da fase bentônica.....	12
Figura 6. Colônia de pólipos de <i>Phyllorhiza punctata</i> durante o processo de indução à estrobilação por aumento de temperatura.....	13
Figura 7. (A) Tanques cilindro-cônicos utilizados no cultivo das éfiras, cada um sujeito a um fotoperíodo distinto. (B) Vista de cima do tanque contendo éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	14
Figura 8. (A) Aquários do tipo kreisel com capacidade de 300 L utilizados para o cultivo das pós-éfiras e medusas juvenis de <i>Phyllorhiza punctata</i> ; (B) Aquários isolados individualmente de acordo com as condições de fotoperíodo; (C) Vista superior do interior do Kreisel.....	15
Figura 9. Representação esquemática do desenho experimental aplicado a <i>Phyllorhiza punctata</i>	17
Figura 10. Exemplificação de como a medida do diâmetro foi definida.....	18
Figura 11. (A) Etapas de preparação das amostras, incluindo medição e fracionamento (B) Medusa adulta de <i>P. punctata</i> sendo medida sobre papel milimétrico.....	19
Figura 12. (A) Amostras preparadas para ciclo na mufla, (B) Amostras após ciclo arrefecendo.....	24
Figura 13. Distribuição do diâmetro da campânula (cm) de medusas cultivadas sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua), apresentada separadamente por classe de tamanho (pequena, média e grande). Os boxplots representam a mediana e o intervalo interquartil; os pontos correspondem a medições individuais.....	28
Figura 14. Estrutura de tamanhos da população de medusas cultivadas sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua). Os indivíduos foram classificados em classes pequena ($\leq 1,2$ cm), média ($> 1,2-2,1$ cm) e grande ($> 2,1$ cm) com base no diâmetro da campânula... 29	
Figura 15. Massa fresca (média $\pm$ desvio padrão) de <i>Phyllorhiza punctata</i> cultivada sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua), apresentada por classe de tamanho (pequena, média e grande).....	30
Figura 16. Relação entre o diâmetro da campânula (cm) e a massa fresca (g) em <i>Phyllorhiza punctata</i> cultivada sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua). As linhas representam regressões lineares para cada tratamento. Para um mesmo diâmetro, as medusas mantidas sob luz contínua apresentaram maior massa fresca, indicando melhor condição corporal sem alteração do crescimento estrutural.....	31
Figura 17. Massa fresca (g) das diferentes frações anatómicas (campânula, braços orais e muco) de <i>Phyllorhiza punctata</i> nos tratamentos de 12 h e 24 h de luz.....	32
Figura 18. Massa seca (g) das frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> sob diferentes regimes de luz (12 h e 24 h).....	33
Figura 19. Percentagem de humidade (%) nas frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> cultivadas sob 12 h e 24 h de luz.....	34
Figura 20. Teor de proteína (%) nas frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> sob 12 h e 24 h de luz.....	35

Figura 21. Teor de colagénio (% de matéria seca) nas frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> nos tratamentos de 12 h e 24 h de luz.....	36
Figura 22. Conteúdo de cinza (% massa seca) nas frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> sob diferentes regimes de luz.....	37
Figura 23. Classes de ácidos gordos (% De Ácidos Gordos totais) nas frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> sob diferentes regimes de luz.....	38
Figura 24. Razão entre ácidos gordos das séries n-3 e n-6 na campânula de <i>Phyllorhiza punctata</i> sob diferentes regimes de luz (12 h e 24 h).....	42
Figura 25. Conteúdo total de ácidos gordos (µg/mg) nas frações anatómicas de <i>Phyllorhiza punctata</i> nos tratamentos de 12 h e 24 h de luz.....	43
Figura 26. Ordenação por análise de coordenadas principais (PCO) baseada em distâncias de Bray-Curtis obtidas a partir de dados de composição de ácidos gordos transformados por $\log(x+1)$. O primeiro eixo (PCO1) explica 94.6% da variação total e separa claramente as frações corporais (campânula e braços), enquanto o segundo eixo (PCO2), responsável por 4.1% da variação, evidencia diferenças associadas ao regime de iluminação (24 h e 12 h). Os vetores representam os ácidos gordos com maior contribuição para a ordenação, indicando a associação da campânula a ácidos gordos polinsaturados e dos braços a ácidos gordos saturados e monoinsaturados.....	48

Índice de Tabelas

Tabela I – Perfil de ácidos gordos das frações corporais (campânula e braços) da medusa <i>Phyllorhiza punctata</i> cultivada nas condições de 12h e 24h de luz.....	38
Tabela II – Análise SIMPER das diferenças no perfil de ácidos gordos entre a campânula e os braços orais de <i>Phyllorhiza punctata</i> (cut-off $\approx 70\%$).....	44
Tabela III – Análise SIMPER das diferenças no perfil de ácidos gordos entre os regimes de fotoperíodo (12 h vs 24 h de luz).....	45
Tabela IV – Análise SIMPER da similaridade dos braços orais.....	46
Tabela V – Análise SIMPER da similaridade da campânula.....	46

Lista de Abreviaturas

AG – Ácidos gordos

°C – Graus Celsius

cm – Centímetros

µg – Microgramas

µL – Microlitros

µm – Micrómetros

ALA – Ácido α-Linolénico

ARA – Ácido Araquidónico

EPA – Ácido Eicosapentaenóico

EtOH – Etanol

FAME – Esteres metílicos de ácidos gordos (*Fatty acid methyl ester*)

FID – Detector de Ionização em Chama (*Flame Ionization Detector*)

g – Gramas

GC – Cromatografia Gasosa (*Gas Chromatography*)

h – Horas

H₂ – Hidrogénio

H₂O – Água

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

H₃BO₃ – Ácido bórico

HCl – Ácido Clorídrico

He – Hélio

ind – Indivíduo

L – Litros

MeOH – Metanol

MF – Massa Fresca

mg – Miligramas

min – minutos

mL – Mililitro

mol/L – Moles por litro

MS – Massa Seca

MUFA – Ácidos Gordos Monoinsaturados (*Unsaturated fatty acid*)

NaOH – Hidróxido de sódio

NH₃ – Amoníaco

NH₄⁺ – Amónio

nm – Nanómetros

n3 – Ómega-3

n6 – Ómega-6

PUFA – Ácidos Gordos Polinsaturados (*Polyunsaturated Fatty Acids*)

SFA – Ácidos Gordos Saturados (*Saturated fatty acid*)

1. Introdução

O presente capítulo tem como objetivo contextualizar teoricamente o estudo desenvolvido, reunindo os principais conceitos e conhecimentos científicos relacionados com a biotecnologia marinha, a composição bioquímica de organismos marinhos e o potencial biotecnológico dos cnidários, com particular enfoque nas medusas. Adicionalmente, é apresentado o estado da arte relativo à espécie *Phyllorhiza punctata*, bem como a influência de fatores ambientais, nomeadamente a intensidade luminosa, no metabolismo e na composição bioquímica destes organismos, estabelecendo a base conceptual para a abordagem experimental adotada neste trabalho.

1.1. Enquadramento teórico

1.1.1 Biotecnologia marinha e diversidade bioquímica dos organismos marinhos

Organismos marinhos constituem uma fonte de metabolitos com atividades biológicas de elevado interesse biotecnológico, abrangendo os potenciais citotóxico, antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório, anticoagulante, analgésico e o desenvolvimento de agentes anticancerígenos, pró-regenerativos, fotoprotetores e nutracêuticos (Gallimore, W. 2017). Ao longo das últimas décadas, mais de 20 000 metabolitos foram isolados a partir do ambiente marinho, tendo os estudos científicos sido intensificados a partir da década de 1970, devido aos avanços tecnológicos e dos métodos de mergulhos além da introdução de veículos operados remotamente (ROVs) (Giugliano et al., 2023).

O ambiente marinho caracteriza-se por amplos gradientes de parâmetros físicos, químicos e hidrológicos que incluem temperatura, salinidade, intensidade da luz e pressão, o que resulta numa elevada diversidade de habitats e formas de vida. Devido a estas condições, os organismos marinhos evoluíram ao longo dos anos e desenvolveram adaptações morfológicas e funcionais essenciais para a sobrevivência e sucesso nestes ecossistemas (Rotter et al., 2021). Estas adaptações refletem-se, frequentemente, na produção de biomoléculas como metabolitos secundários, enzimas e biopolímeros, com propriedades bioativas relevantes para aplicações biotecnológicas (Ragozzino et al., 2025).

A biotecnologia marinha é reconhecida como um setor de crescimento económico globalmente significativo que oferece oportunidades para uma ampla gama de iniciativas de

interesse comercial. Compostos de origem marinha têm sido explorados em setores como a indústria farmacêutica, biomédica, cosmética, nutracêutica, alimentar e agrícola, destacando-se pela sua diversidade estrutural e funcional (Van den Burg et al., 2019; Moutinho Cabral et al., 2024). Este potencial resulta, em grande parte, da elevada diversidade bioquímica dos organismos marinhos, que continua a ser alvo de investigação científica intensiva.

1.1.2 Biotecnologia marinha e principais classes de compostos

A vasta biodiversidade marinha, que abrange desde microrganismos unicelulares a invertebrados complexos, constitui um dos mais promissores acervos de metabolitos da atualidade. Estes organismos desenvolveram vias metabólicas especializadas em resposta às condições extremas do ambiente oceânico, resultando na síntese de moléculas extraídas de diversos tecidos e órgãos com elevado valor funcional (Lobine et al., 2022). Tais compostos apresentam propriedades biológicas distintas, como atividades antibacterianas, antivirais e anticancerígenas, consolidando a biotecnologia marinha como um setor estratégico para as indústrias farmacêutica e alimentar (Zhao et al., 2018; Romano et al., 2022).

No âmbito dos constituintes mais abundantes, os biopolímeros estruturais, em particular os polissacarídeos, assumem um papel preponderante devido à sua versatilidade e complexidade química. Nas macroalgas, a composição destes hidratos de carbono varia significativamente entre grupos taxonómicos: as algas castanhas (Phaeophyceae) destacam-se pela presença de laminarina, fucoidanos e alginatos, enquanto as algas vermelhas (Rhodophyceae) e verdes (Chlorophyceae) são fontes primordiais de carragenanas, agares e galactanas sulfatadas (Majee et al., 2017; Dave & Senadheera., 2021). Além da sua função como fibras alimentares, estes polissacarídeos sulfatados exibem características físico-químicas únicas que permitem a sua aplicação como agentes estabilizadores e bioativos. Esta relevância estrutural estende-se aos invertebrados, como nos crustáceos, cujas carapaças representam uma fonte rica de quitina e quitosana, polímeros com ampla aplicação no desenvolvimento de biomateriais e produtos cosméticos (Šimat et al., 2022).

Quanto ao metabolismo azotado, os organismos marinhos oferecem uma fonte de proteínas, enzimas e peptídeos de elevado valor biológico. A versatilidade das microalgas tem despertado um interesse crescente, uma vez que a sua diversidade metabólica permite a

obtenção de enzimas inovadoras e peptídeos com atividades terapêuticas comprovadas, incluindo efeitos anti-hipertensivos e imunomoduladores (Cunha & Pintado., 2022). Esta qualidade nutricional e funcional é igualmente observada em moluscos e crustáceos, onde a presença de aminoácidos essenciais e proteínas de alta digestibilidade fundamenta a sua utilização no desenvolvimento de nutracêuticos e alimentos funcionais de nova geração (Suleria et al., 2015).

A fração lipídica e os metabolitos secundários especializados constituem outro ramo essencial da investigação biotecnológica. Compostos como ácidos gordos polinsaturados, esteróis e saponinas desempenham funções reguladoras vitais; nos equinodermos, por exemplo, as asterosaponinas são reconhecidas pelas suas potentes propriedades citotóxicas e antitumorais (Stonik et al., 2020). No início da década de 1950, a exploração de invertebrados como as esponjas marinhas revelou-se um marco na farmacologia, conduzindo ao isolamento de nucleosídeos que serviram de base para fármacos quimioterápicos como a citarabina, desenvolvido a partir da espécie caribenha *Cryptotheca crypta* (atualmente *Tectitethya crypta*). Desde então, a diversidade química destes organismos, que inclui alcaloides, terpenoides e policetídeos, continua a fornecer moléculas precursoras para o tratamento de patologias (Liu et al., 2019).

Quanto à proteção contra o stress oxidativo no meio marinho, esta é mediada por uma vasta gama de pigmentos e compostos fenólicos. As macroalgas e microalgas produzem metabolitos com elevada capacidade antioxidante, capazes de neutralizar radicais livres e prevenir danos celulares (Zhao et al., 2018). Entre estes, destaca-se a astaxantina, um pigmento carotenoide abundante em crustáceos, cuja eficácia biológica tem impulsionado a sua aplicação tanto na nutrição humana como em cosmeceúticos, reforçando o valor económico e funcional dos subprodutos da pesca e aquicultura, a título de exemplo (Šimat et al., 2022).

1.1.3 O potencial dos cnidários como recursos biotecnológicos

Os cnidários constituem um grupo de invertebrados marinhos que tem atraído atenção para investigação devido ao seu potencial biotecnológico, nomeadamente pela capacidade de produzir toxinas, proteínas e outros compostos bioativos (Vega-Tamayo et al., 2025). Este filo inclui organismos como corais, anémonas e medusas, apresentando uma diversidade

considerável de metabolitos com interesse farmacológico e industrial (Rocha et al., 2011). Apesar do crescente interesse, os cnidários têm sido relativamente pouco explorados para a obtenção de produtos naturais quando comparado a outros grupos taxonômicos, sendo que a maior parte dos compostos bioativos extraídos tem origem em cnidários bentônicos. Em contraste, o número de moléculas isoladas a partir de cnidários pelágicos, como as hidromedusas e cifomedusas, permanece limitado (Carroll et al., 2019).

Entre os cnidários bentônicos, os corais moles destacam-se como fontes ricas em metabolitos secundários, como diterpenos, sesquiterpenos, furanoditerpenos, terpenoides, capnelenos e esteroides (Rocha et al., 2011). Estes compostos apresentam atividades biológicas, tais como propriedades antivirais, citotóxicas, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antimicrobianas, além de respostas cardíacas e vasculares, sendo também investigados como fonte de agentes anti-incrustantes. (Zhang et al., 2025).

As gorgônias também se destacam entre os cnidários bentônicos, possuindo abundantes compostos com elevada citotoxicidade contra diversas linhagens de células cancerígenas. Neste contexto, tem-se verificado um enfoque crescente na identificação de terpenos e esteroides bioativos, capazes de induzir apoptose em células tumorais, além de exibirem outras propriedades anti-inflamatória e alguns compostos de interesse para novos agentes anti-incrustantes (Sheu et al., 2004; Lei et al., 2020). As anêmonas representam outra fonte de compostos bioativos, destacando-se pela produção de proteínas e polipeptídeos biologicamente ativos, como toxinas citolisinas, neuropeptídeos, proteases e peptídeos antimicrobianos com aplicações terapêuticas relevantes (Barroso et al., 2025).

1.1.4 Medusas: constituição bioquímica e aplicações

As medusas são componentes naturais dos ecossistemas marinhos e desempenham um papel relevante na prestação de diversos serviços ecossistêmicos, incluindo o sequestro de carbono através da transferência de biomassa para as zonas mais profundas do oceano após a sua morte, o fornecimento de habitats para peixes juvenis, uma associação ecológica facultativa, nas quais os peixes utilizam o corpo da medusa como abrigo temporário e a contribuição para a biodiversidade marinha (Duarte et al., 2022). Estes organismos participam nas principais categorias de serviços ecossistêmicos: regulação, suporte, provisão e serviços culturais (Doyle et al., 2014). Para além da sua importância ecológica, as medusas demonstram um

significativo potencial para utilização humana, o que tem impulsionado o aumento do seu valor agregado (Duarte et al., 2022).

Consideradas um grupo polifilético de organismos com plano corporal caracterizado pelo alto teor de água e baixo teor de carbono, podendo ter um ciclo de vida bipartido, uma fase de pólipó bentônico e uma fase pelágica, as três classes principais são: Hydrozoa, Cubozoa e Scyphozoa, consideradas as verdadeiras medusas (Pitt & Lucas, 2014). A classe Hydrozoa inclui sete ordens e quase 3500 espécies, algumas solitárias e outras coloniais, apesar do grande número de espécimes, apenas algumas delas tiveram produtos naturais marinhos investigados nos últimos anos (Barreca et al., 2020; Rocha et al., 2011).

A classe Cubozoa, é considerada o menor grupo de medusas verdadeiras, com aproximadamente 50 espécies reconhecidas. Os focos para investigações nessas espécies estão principalmente voltadas para toxicidade, uma vez que esta classe é extremamente venenosa (Andreosso et al., 2018; Brinkman & Burnell, 2009).

Já a classe Scyphozoa possui a maioria das grandes medusas planctônicas, conta com aproximadamente 200 espécies conhecidas e distinguem-se por não possuírem o véu, uma estrutura muscular. Com ciclo de vida multimodal, geralmente apresenta fase de pólipó reduzida, o citóstoma, em seguida geram éfiras adentrando após na fase medusa. As pesquisas recentes focam na ecologia, devido aos crescentes eventos de *blooms* que impactam a pesca e a infraestrutura costeira (Avian et al 2021 & Duarte et al., 2022).

O interesse biotecnológico das medusas está associado, em grande parte, à sua composição bioquímica, que inclui proteínas, em particular, colagénio, polissacarídeos, aminoácidos e ácidos gordos (Upata et al., 2022). Para além do consumo alimentar, as medusas têm sido exploradas em aplicações não alimentares e de alto valor acrescentado, abrangendo setores como a indústria farmacêutica, através da utilização de colágeno purificado, anticoagulantes, peptídeos anti-hipertensivos e antimicrobianos; a indústria cosmética, pelas suas propriedades hidratantes e antienvelhecimento; a agricultura, como fonte de fertilizantes e pesticidas orgânicos; a aquicultura, na formulação de rações; e a biotecnologia ambiental, nomeadamente em processos de descontaminação, que exploram as propriedades coagulativas do muco para capturar nanopartículas (Edelist et al., 2021). Destaca-se ainda o isolamento do gene da proteína fluorescente verde (GFP) amplamente utilizada como marcador molecular em investigação científica (Edelist et al., 2021; Prommasith et al., 2024).

Apesar da sua relevância ecológica e económica, as medusas têm vindo a ser associadas a impactos negativos em determinados contextos. As alterações climáticas, juntamente com o stress antropogénico, como a sobrepesca e a degradação de habitats, bem como a elevada capacidade de adaptação ambiental destes organismos, têm contribuído para o aumento da frequência de *blooms* e para a proliferação de espécies invasoras e exóticas, com potenciais consequências ecológicas e socioeconómicas (Bosch-Belmar et al., 2020; Rato et al., 2021).

1.1.5 *Phyllorhiza punctata*: biologia e interesse biotecnológico

A espécie *Phyllorhiza punctata* (Von Lendenfeld, 1884), pertencente à família Mastigiidae, classe Scyphozoa, constitui o objeto de estudo do presente trabalho e apresenta um conjunto de características biológicas que justificam o seu interesse científico e biotecnológico. Esta medusa é facilmente reconhecida pela presença de pontos brancos na campânula sendo vulgarmente denominada medusa de-pintas-australiana, e pode atingir um diâmetro entre os 45 e 50 cm (Haddad & Nogueira Júnior, 2006; Fernández-Álías et al., 2024). A coloração varia entre tons acastanhados, indicando a presença de zooxantelas simbióticas, e azulado, indicativo da ausência ou a perda (Graham et al., 2003; Bolton & Graham, 2004; Verity et al., 2011), refletindo a importância da simbiose fotossintética no seu metabolismo (Verity et al., 2011; Takauchi et al., 2024).

A espécie apresenta um ciclo de vida metagénico, alternando entre uma fase bentónica de pólipo e uma fase pelágica de medusa (Figura 1). A reprodução sexuada ocorre entre indivíduos adultos, originando larvas planctónicas que se fixam ao substrato e se transformam em pólipos (fase sésil). Estes reproduzem-se assexuadamente por gemulação ou por estrobilação, sendo que, no caso de *P. punctata*, ocorre estrobilação monodisco, com a produção de uma única éfira por evento (Arai, 1997; Jarms & Morandini, 2019; Helm & Dunn, 2017). O desenvolvimento relativamente rápido desde a fase de éfira até à medusa adulta, geralmente entre dois a três meses, constitui uma vantagem para a produção de biomassa em condições controladas (Haddad & Nogueira Júnior, 2006; Prieto et al., 2010).

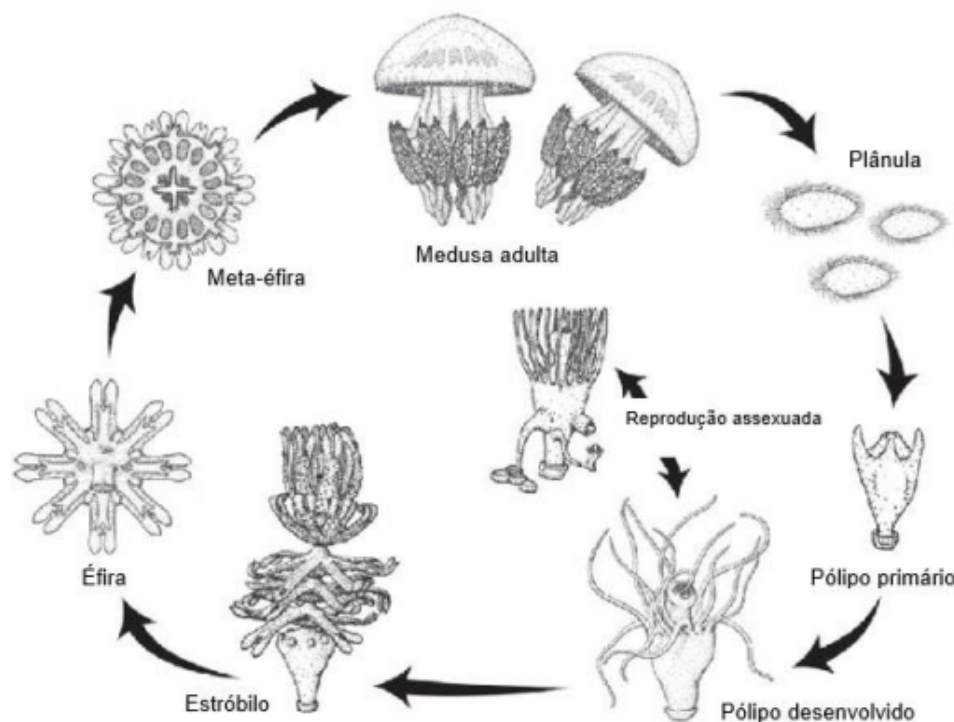


Figura 1. Representação esquemática do ciclo de vida de *Phyllorhiza punctata*, incluindo as fases de pólipo, estrobilação, éfira, medusa juvenil e medusa adulta. Fonte: Adaptado de Purcell et al. 2013, por Roso, 2022.

Originalmente descrita em regiões tropicais e subtropicais do oceano Pacífico ocidental, *P. punctata* apresenta atualmente uma ampla distribuição geográfica, sendo considerada uma espécie invasora em diversas regiões do mundo, incluindo o oceano Atlântico, o Índico e o mar Mediterrâneo (Bayha & Graham, 2013; Jarms & Morandini, 2019) (Figura 2). A sua presença fora da área nativa tem sido associada a impactos ecológicos, nomeadamente a redução da abundância de mesozooplâncton e interferências na atividade pesqueira, como a obstrução de redes (Gueroun et al., 2015; (Ocaña-Luna et al., 2010). A dispersão das espécies está frequentemente relacionada com atividades antropogénicas, em particular o transporte marítimo, através da água de lastro e da incrustação de estágios bentónicos em embarcações (Larson & Arneson 1990; Bolton & Graham, 2004).



Figura 2. Distribuição conhecida da espécie *Phyllorhiza punctata*. Distribuição global: área nativa (azul), não- nativa (vermelho) e criptogénico (amarelo). (Fonte: Smithsonian Environmental Research Center's National Estuarine and Marine Exotic Species Information System, NEMESIS).

Para além do seu impacto ecológico, *Phyllorhiza punctata* apresenta um elevado potencial biotecnológico, o que tem impulsionado o interesse científico na sua valorização sustentável. No entanto, há uma notável lacuna nos estudos das suas características moleculares e bioquímicas, com foco limitado na composição lipídica e no perfil de ácidos gordos. Embora a sua toxicidade seja relativamente baixa quando comparada com outras medusas, as proteínas identificadas mais abundantes são altamente valorizadas, como o colagénio que pode servir como uma alternativa promissora ao colagénio de origem mamífera, oferecendo baixa imunogenicidade e alta biocompatibilidade, uma vez que existem preocupações de saúde como a encefalopatia espongiforme bovina e restrições culturais, podendo ser explorado até mesmo para a produção de plásticos altamente biodegradáveis. Para além disso, a espécie tem sido tradicionalmente utilizada nas indústrias cosméticas e alimentar, reforçando o seu interesse como recurso biotecnológico (Merquiol et al., 2019; Rodrigues et al., 2025).

1.1.6 Luz/zoóxantelas e impacto no metabolismo

Dentre os componentes vitais no ecossistema marinho, a intensidade luminosa constitui um fator ambiental determinante, exercendo uma influência direta na dinâmica das populações biológicas. Nas medusas interfere, por exemplo, na manutenção das que possuem zoóxantelas, as mesmas convertem carbono e azoto inorgânicos disponíveis externamente em formas orgânicas, predominantemente em hidratos de carbono, aminoácidos e ácidos gordos.

A exposição a diferentes regimes de luz influencia a produção e a composição de ácidos gordos no sistema, devido ao facto de os ácidos gordos, tal como outras formas orgânicas sintetizadas pelas zooxantelas, são translocados para o hospedeiro, fazendo com que as variações na exposição luminosa alterem a produção e a composição lipídica do sistema simbiótico (Mortillaro et al., 2009).

Diante de sua relevância biológica, a medusa *Phyllorhiza punctata* possui um conjunto notável de características, incluindo sua adaptabilidade a diversas condições ambientais, que sugere a produção de compostos bioativos em resposta ao stress, e alta capacidade reprodutiva, que garante a rápida produção de biomassa para a extração de compostos de valor, por tanto justificam e favorecem a sua exploração biotecnológica.

1.2 Objetivos do estudo

Esta investigação teve como objetivo principal investigar o impacto dos regimes de iluminação no crescimento e composição bioquímica da medusa *Phyllorhiza punctata*. Para alcançar o objetivo principal, este trabalho dividiu-se nos seguintes objetivos específicos: (1) Produção de biomassa da espécie *Phyllorhiza punctata* em ambiente controlado no laboratório; (2) Padronização e recolha das amostras dos espécimes adultos para processamento analítico; (3) Registo de parâmetros biométricos; (4) Avaliação da composição bioquímica: teor de lípidos totais (gorduras) e perfil de ácidos gordos; proteína bruta, colagénio e cinza (matéria mineral), de forma a comparar as variações bioquímicas induzidas pelos diferentes regimes de luz.

2. Material e Métodos

2.1 Cultivos Auxiliares

2.1.1 Cultivo de Artémia (*Artemia franciscana*)

A artémia foi utilizada como alimento em todas as fases do ciclo de vida de *Phyllorhiza punctata*. A eclosão dos náuplios foi realizada diariamente. Para cada ciclo, 5 g de cistos de artémia foram inoculados numa garrafa de 2 L com água salgada (34), sob arejamento intenso e iluminação LED branca contínua durante 24 horas, a 25 °C, para garantir elevadas taxas de eclosão.

Foram utilizados cistos revestidos com uma camada magnética não tóxica, permitindo a remoção seletiva do córion. Após 24 horas, o conteúdo da garrafa foi transferido para um recipiente de 2 L e o córion removido com o auxílio de um ímã em formato de bastão, repetindo-se o processo até não se observarem cistos residuais (Figura 3). Em seguida, a artémia foi filtrada e concentrada por um crivo de 100 μm e lavada com água salgada a fim de eliminar quaisquer resquícios de compostos indesejados e mantida em água salgada com arejamento contínuo até o momento de ser utilizada na alimentação.

Para a padronização da concentração de artémia necessária nas alimentações variando apenas os volumes consoante o estágio do ciclo de vida, foram realizadas contagens, com o auxílio de uma lupa binocular e um contador manual. A solução inicial de artémia (0,5 L) foi diluída com água salgada até perfazer os 5 L. Deste recipiente retirou-se 1 mL para cada poço da placa de contagem, após 16 contagens no mês, estabeleceu-se a concentração de 1112 indivíduos/mL.

A limpeza das garrafas de eclosão foi realizada duas vezes na semana, sendo lavada com água de osmose e o auxílio de uma escova para tubos (escovilhão).

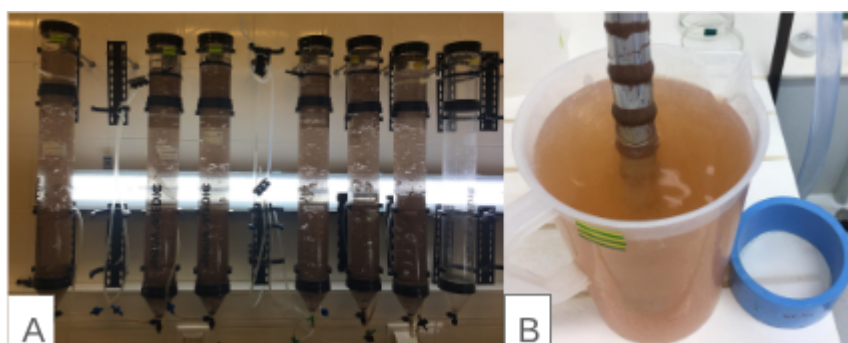


Figura 3. (A) Garrafas de eclosão das artémias, (B) Processo de remoção dos cistos com auxílio do ímã.

2.1.2 Cultivo de Rotíferos

A espécie utilizada foi *Brachionus plicatilis* sendo fornecida para alimentação apenas nos estágios do ciclo de vida, enquanto pólipos e éfiras, na concentração de 175 indivíduos/mL. O cultivo foi mantido em recipiente de 5 L com arejamento fraco e luz de LED branca constante, na temperatura de 25 °C e salinidade 25 (Figura 4). A limpeza e renovação da água total foram realizadas duas vezes por semana com o auxílio de um crivo de 200 µm.

Para alimentação dos rotíferos, utilizou-se uma mistura de duas microalgas *Nannochloropsis gaditana* e *Tetraselmis chui*, num rácio de 1:1. O procedimento de manutenção consistiu na remoção de 1 L do cultivo, filtrado através de um crivo de 45 µm; em seguida, adicionou-se 1 L de suspensão de microalgas, permitindo a recuperação dos rotíferos retidos no crivo e assegurando a manutenção do volume total de 5 L.



Figura 4. Cultivo de rotíferos.

2.2 Manutenção e cultivo de *Phyllorhiza punctata* para produção de biomassa

2.2.1 Pólipos *Phyllorhiza punctata*

As medusas utilizadas nesta investigação foram obtidas a partir de uma colónia de pólipos previamente estabelecida em laboratório, a qual originou uma colónia específica para a realização deste trabalho. Esta foi mantida durante três meses num aquário simples de 4 L com arejamento fraco (Figura 5).

As condições físico-químicas do cultivo foram mantidas constantes, com temperatura de 20 °C (± 1 °C), salinidade a 34, pH 8,0 e com período de luz 12h-12h. A alimentação dos pólipos

consistiu na administração de artémia (20 mL, três vezes por semana), e de rotíferos (10 mL, duas vezes por semana).

As trocas de água foram realizadas duas vezes por semana, com uma renovação da água salgada de 100%, de modo a assegurar a qualidade da água. A água salgada utilizada foi previamente filtrada através de um crivo de 20 µm, ajustada para a salinidade pretendida com água de osmose reversa para 34 e aclimatada antes da reposição no sistema.

Durante o procedimento da troca de água, os pólipos que se libertavam do substrato ou não estavam fixos eram cuidadosamente recolhidos e devolvidos à colónia com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. A água removida foi filtrada por um crivo de 45 µm para prevenir a perda de pólipos não observados.

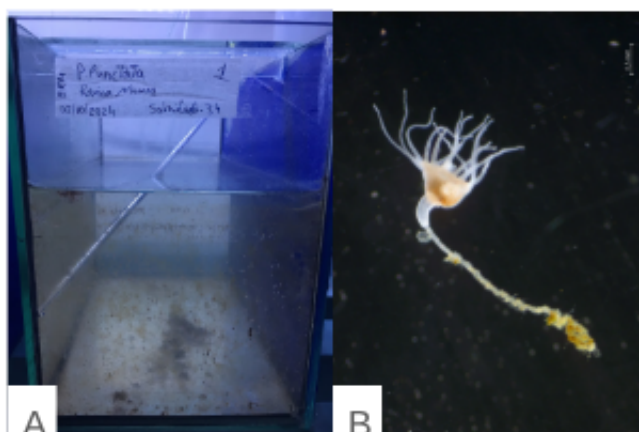


Figura 5. (A) Aquário de cultivo contendo colónia de pólipos de *Phyllorhiza punctata* mantida em condições controladas de laboratório. (B) Pólipo individual de *Phyllorhiza punctata* evidenciando a morfologia típica da fase bentónica.

2.2.2 Estrobilação *Phyllorhiza punctata*

A colónia de pólipos foi induzida à estrobilação após três meses de manutenção em condições controladas. A indução foi realizada através do aumento da temperatura de 20 °C para 25 °C

(± 1 °C), mantendo-se todas as rotinas de cultivo (arejamento, trocas de água e regime alimentar) (Figura 6).

Treze dias após o aumento da temperatura foram libertadas 93 éfiras, as quais foram transferidas para tanques cilindro-cônicos de 20 L. A colônia foi mantida nestas condições por mais cinco dias, para obter o número de éfiras necessárias para o estudo, após o período. Concluída esta fase, os pólipos foram gradualmente aclimatados a temperatura de 20 °C, interrompendo o processo de estrobilação.

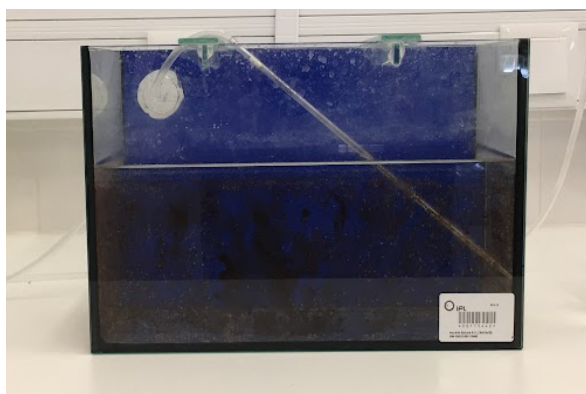


Figura 6. Colônia de pólipos de *Phyllorhiza punctata* durante o processo de indução à estrobilação por aumento de temperatura.

2.2.3 Éfiras de *Phyllorhiza punctata*

As éfiras foram cultivadas em três tanques cilindro-cônicos com capacidade de 20 L, cada um sujeito a um fotoperíodo distinto.

Tanque 0 h - ausência total de luz (0 h: 24 h escuro);

Tanque 12 h - 12 h de luz e 12 h de escuridão;

Tanque 24 h - luz contínua (24 h luz).

Dois dos tanques estavam equipados com iluminação LED branca individual, e todos foram isolados superiormente com lona preta móvel para garantir a manutenção das condições luminosas atribuídas. Em cada tanque foram introduzidas 162 éfiras, totalizando 486 indivíduos. As condições físico-químicas foram mantidas a 25 °C (± 1 °C), pH 8,0, salinidade de 34 e arejamento contínuo de intensidade média (Figura 7).

A alimentação diária consistiu em 200 mL de uma suspensão de rotíferos (*Brachionus* spp.) à concentração de 175 indivíduos/mL, previamente enriquecidos com 20 mL de uma mistura (1:1) de *Nannochloropsis gaditana* e *Tetraselmis chui*. Adicionalmente, foram fornecidas 100 mL de artêmia (*Artemia franciscana*) concentração de 1112 indivíduos/mL, fracionada em duas vezes ao dia.

As trocas de água foram realizadas três vezes por semana. A totalidade da água de cada tanque foi retirada juntamente com as éfiras, permitindo a higienização adequada dos tanques. Em seguida, 50% da água original foi devolvida ao tanque com os organismos, e os restantes 50% repostos com água salgada nova, previamente ajustada aos parâmetros de qualidade estabelecidos.

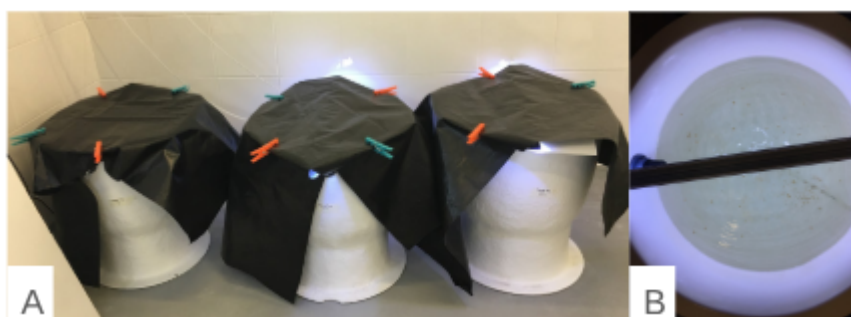


Figura 7. (A) Tanques cilindro-cônicos utilizados no cultivo das éfiras, cada um sujeito a um fotoperíodo distinto. (B) Vista de cima do tanque contendo éfiras de *Phyllorhiza punctata*.

2.2.4 Pós-éfiras e medusas juvenis de *Phyllorhiza punctata*

Após oito dias de crescimento, as primeiras pós-éfiras (já com campânulas em desenvolvimento e braços orais incipientes) foram transferidas para aquários do tipo *kreisel* com capacidade de 300 L. Cada sistema estava equipado com sumps individuais, biobolas com arejamento, bomba de recirculação e aquecedor regulado para 25 °C (± 1 °C).

A configuração luminosa estabelecida na fase anterior foi mantida: dois aquários foram equipados com iluminação LED branca individual, permitindo a continuidade das três condições experimentais de fotoperíodo (0 h, 12 h e 24 h de luz) (Figura 8). Para garantir a integridade das condições luminosas, os aquários foram isolados com lonas pretas, deixando

apenas uma abertura a fim de manter as condições de luz individuais, possuindo apenas uma abertura móvel na parte superior permitindo a manutenção interna.

A alimentação consistiu exclusivamente em artêmia (*Artemia franciscana*). O fornecimento inicial foi de 1 L, fracionado em 250 mL, 4x ao dia. À medida que os organismos cresceram e de acordo com a abundância de alimento, o volume fornecido foi progressivamente ajustado:

- 1,6 L/dia (4 x 400 mL),
- 2 L/dia (4 x 500 mL),
- 3 L/dia (4 x 750 mL).

A manutenção dos aquários incluía limpeza diária, com substituição total das *sumps* e sifonamento do alimento depositado no fundo dos aquários. Adicionalmente, realizaram-se trocas de água de 50% nos aquários três vezes por semana, acompanhada de limpeza completa das superfícies internas, garantindo a manutenção dos parâmetros físico-químicos: pH 8,0, salinidade 34 e temperatura de 25 °C (± 1 °C).

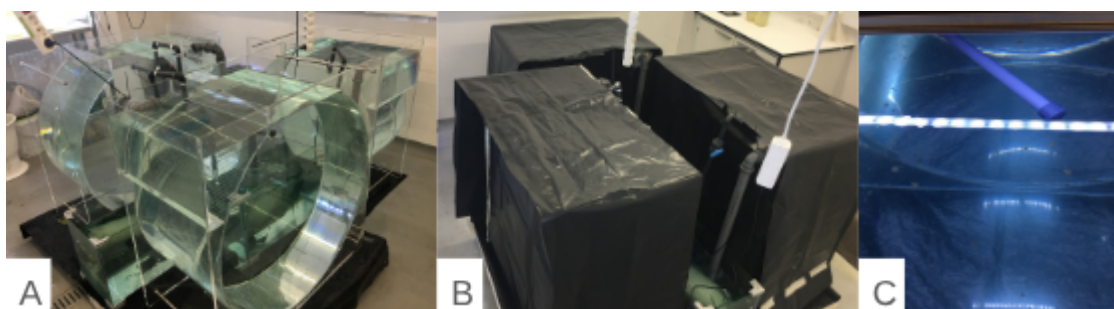


Figura 8. (A) Aquários do tipo *kreisel* com capacidade de 300 L utilizados para o cultivo das pós-efiras e medusas juvenis de *Phyllorhiza punctata*; (B) Aquários isolados individualmente de acordo com as condições de fotoperíodo; (C) Vista superior do interior do *Kreisel*.

2.3 Desenho Experimental

O estudo foi estruturado para avaliar o impacto de diferentes intensidades luminosas no crescimento e composição bioquímica de *Phyllorhiza punctata* (Figura 9). Para tal, foram definidos inicialmente três tratamentos de fotoperíodo, aplicados desde a fase de éfira até ao estágio adulto:

- 0 h luz – ausência total de iluminação
- 12 h luz / 12 h escuro
- 24 h luz contínua

Estes fotoperíodos foram aplicados em tanques independentes, com parâmetros ambientais controlados ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 34 ppt, pH 8,0), conforme descrito na Secção 2.2.

É importante salientar que, medusas adultas muito deformadas (campânula invertida ou campânula com má formação) foram descartadas dos tanques 12 h luz/ 12 h escuro e 24 h luz contínua, de forma proporcional em ambos os tanques.

Contudo, o tratamento 0 h luz apresentou mortalidade extremamente elevada, não permitindo a obtenção de medusas adultas em quantidade suficiente para preparação das amostras. Este comportamento é coerente com a fisiologia da espécie, cuja simbiose com zooxantelas fotossintéticas depende de luz para manter o metabolismo e o desenvolvimento normal. Assim, o tratamento 0 h foi excluído das análises subsequentes.

O desenho experimental final incluiu, portanto, dois tratamentos:

- 12 h luz (fotoperíodo equilibrado)
- 24 h luz (iluminação contínua)

Fração anatómica como unidade de análise.

Para avaliar a composição bioquímica de forma mais completa, cada medusa foi separada em três frações anatómicas independentes:

- Campânula
- Braços orais
- Muco

Estas frações não constituem fatores experimentais; tratam-se de compartimentos anatómicos analisados separadamente para caracterizar diferenças internas na distribuição de lípidos, proteínas total, cinza, ácidos gordos e colagénio. A metodologia de recolha e fracionamento encontra-se descrita detalhadamente nas Secções 2.4 e 2.4.1.

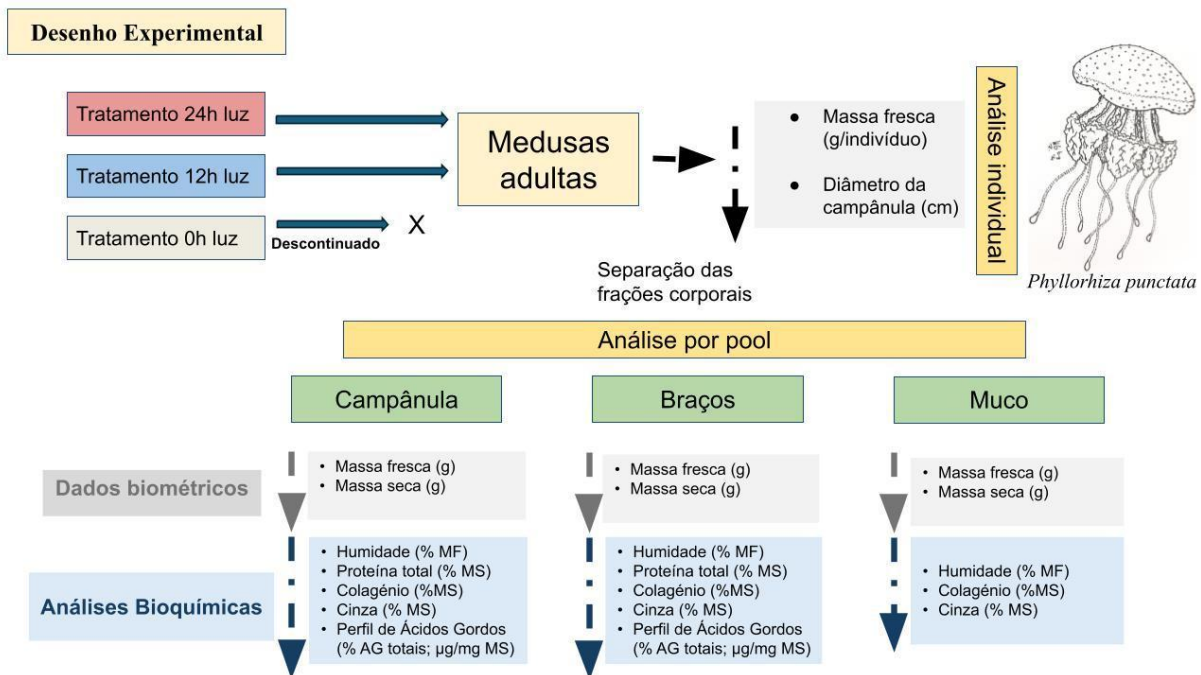


Figura 9. Representação esquemática do desenho experimental aplicado a *Phyllorhiza punctata*.

2.4 Preparação das amostras

A preparação das amostras incluiu as etapas recolha, medição, pesagem, extração do muco e fracionamento anatómicos (campânula, braços e muco) e posterior liofilização das frações. Todas as amostras analisadas foram obtidas de medusas adultas provenientes dos tratamentos de **12 h** e **24 h** de luz, conforme o desenho experimental descrito na Secção 2.3.

2.4.1 Dados Biométricos

As medusas adultas foram retiradas dos aquários utilizando um camaroeiro e manuseadas com luvas cirúrgicas para minimizar o stress e evitar contaminações. Cada indivíduo foi colocado num gobelé contendo água salgada e o comprimento da campânula (cm) foi medido com o auxílio de uma régua sobre papel milimétrico (Figura 10), registando o maior diâmetro visível. Os valores observados variaram entre 0,10 e 4,60 cm.

Para caracterizar a estrutura de tamanhos da população, os indivíduos foram classificados em três classes de tamanho com base na distribuição empírica dos diâmetros. Os limites das

classes foram definidos pelos tercís da distribuição, correspondendo aos percentis 33,3% e 66,6% do conjunto total de medições. Estes valores corresponderam a 1,2 cm e 2,1 cm, respetivamente.

Assim, foram consideradas: classe pequena ($\leq 1,2$ cm), classe média ($> 1,2-2,1$ cm) e classe grande ($> 2,1$ cm), permitindo descrever a estrutura de tamanhos da população sem impor limites arbitrários, refletindo a variabilidade natural de crescimento observada em cultivo.

A seguir, cada medusa foi sujeita a três ciclos de dessalinização consecutivos, sendo imersa em 300 mL de água tipo III (água de osmose reversa) para remover o excesso de sal. Após cada lavagem, o excesso de água superficial foi removido com papel absorvente até que o organismo estivesse apenas húmido. De seguida, a massa húmida de cada organismo intacto foi determinada numa balança analítica Sartorius TE124S (capacidade máxima 120 g; resolução $d = 0,1$ mg).

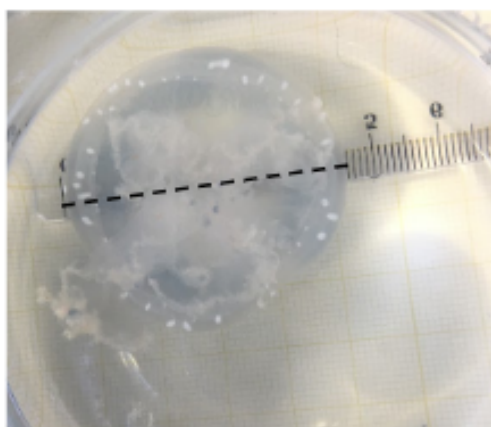


Figura 10. Exemplificação de como a medida do diâmetro foi definida.

Cada medusa foi fracionada em três compartimentos anatómicos, de acordo com os objetivos do estudo: campânula, braços orais e muco.

Três tubos Falcon de 50 mL foram previamente identificados (1 – campânula; 2 – braços; 3 – muco) e pesados, registando-se a massa dos tubos vazios (F).

Para a extração do muco a medusa foi suspensa com auxílio de uma pinça sobre o Falcon correspondente durante 2 minutos, permitindo que o muco escorresse por gravidade. O Falcon contendo o muco recolhido foi pesado novamente para cálculo da massa obtida.

Posteriormente, procedeu-se à cisão da campânula e braços. A campânula e os braços foram separados com uma tesoura cirúrgica sobre uma placa de Petri. Cada fração foi transferida para o respectivo Falcon, que foi posteriormente pesado para determinação da massa húmida.

Para cada tratamento experimental (12h e 24h), foram preparadas 3 réplicas biológicas independentes. Cada réplica consistiu num pool de no mínimo, duas medusas adultas, de modo a obter massa suficiente para as análises subsequentes (entre 20g e 30g de massa fresca). A preparação dos pools seguiu as mesmas etapas descritas acima (dessalinização, recolha do muco e fracionamento) (Figura 11). O material de uma nova medusa (campânula, braços ou muco) era adicionado ao mesmo Falcon utilizado para a primeira medusa, registando-se no final, o número de indivíduos utilizados e a massa total húmida dos pools para cada fração corporal.

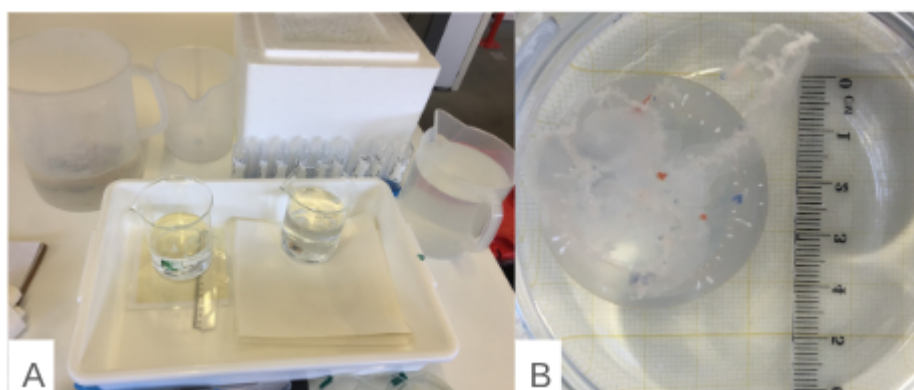


Figura 11. (A) Etapas de preparação das amostras, incluindo medição e fracionamento (B) Medusa adulta de *P. punctata* sendo medida sobre papel milimétrico.

As frações recolhidas foram mantidas em caixa térmica com gelo durante todo o processo de preparação. Após a recolha, os tubos foram armazenados a -80 °C até serem submetidos ao ciclo completo de liofilização (liofilizador Labogene A/S, CoolSafe, Dinamarca), garantindo a preservação das amostras para as análises bioquímicas.

Após a liofilização, registou-se a massa de cada Falcon mais biomassa seca. Com base nos dados recolhidos, determinou-se para cada pool e para cada fração corporal, a massa húmida; massa seca e a percentagem de Humidade (3), por aplicação das equações (1), (2) e (3):

- (1) $m_H = \frac{m_{(F+BMH)} - m_F}{N}$
- (2) $m_S = \frac{m_{(F+BMS)} - m_F}{N}$
- (3) $Humidade (\%) = \frac{m_{(F+BMH)} - m_{(F+BMS)}}{m_{(F+BMH)}} \times 100$

Sendo: m_H – massa húmida média em gramas; m_F – massa do Falcon; m_S – massa seca média em gramas; BMH – biomassa húmida total; BMS – Biomassa seca total; N – número de indivíduos usados em cada pool

2.5 Caracterização bioquímica

2.5.1 Quantificação de proteína

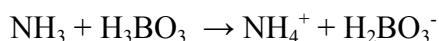
O teor de azoto total das amostras foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC., 2016). Este método baseia-se na conversão do azoto orgânico presente na amostra em azoto amoniacal, permitindo a quantificação por titulação ácido-base.

Inicialmente, 100 mg de cada amostra foram pesados numa balança analítica e transferidos para tubos de Kjeldahl (Foss). Em cada tubo foram adicionados 15 mL de ácido sulfúrico concentrado a 98% e uma pastilha catalisadora (Kjeltabs, Panreac), possibilitando a digestão da matéria orgânica. O processo de digestão foi realizado num digestor de blocos (Bloc Digest 6 P-Selecta, J.P. Selecta S.A., Barcelona, Espanha), consistiu no aquecimento a 180 °C durante 20 minutos, seguido de um aumento para 380 °C durante 40 minutos, até à obtenção

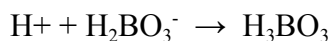
de uma solução límpida, indicando a completa digestão da amostra. Durante esta etapa, todo o azoto orgânico foi convertido em iões amónio (NH_4^+).

Após a digestão, ocorreu a etapa de destilação utilizando uma unidade de destilação semi-automática (modelo UDK 139, Velp Scientifica, Monza-Brianza, Itália). A destilação foi realizada em meio alcalino, adicionando-se 70 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 32% e 70 mL de água desionizada aos tubos de Kjeldahl contendo as amostras digeridas, sendo submetidas à destilação durante um período de 5 minutos. Em meio alcalino, o ião amónio (NH_4^+) é convertido em amoníaco (NH_3) caracterizado como volátil, que é recolhido por destilação na solução de ácido bórico (H_3BO_3)

O destilado foi recolhido num Erlenmeyer contendo 30 mL de ácido bórico a 4%, preparado com os indicadores vermelho de metilo e verde de bromocresol. Durante esta etapa ocorre a reação entre o amoníaco e o ácido bórico, conforme a seguir representado:



Posteriormente, a solução resultante foi titulada com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M, até à mudança de cor, de verde para roxo, indicando o ponto final da titulação. A reação de titulação pode ser representada como:



Para controlo, foram realizados três ensaios em branco (sem amostra) e três ensaios de controlo utilizando o aminoácido glicina, preparados segundo a metodologia descrita previamente. O teor de proteína total foi calculado a partir do teor de azoto determinado, utilizando um fator de conversão de azoto em proteína com o valor de 6,25 (Jones, 1931).

Fez-se o cálculo da proteína total por aplicação da seguinte fórmula:

$$(4) \text{ Proteína total}(\% \text{ MS}) = \frac{[\text{HCl}] \times (V_A - V_B) \times 14 \times 6,25}{m_{(A)}} \times 100$$

Sendo: [HCl] concentração da solução padrão de ácido clorídrico (mol/L); V_A e V_B – Volume (mL) de HCl usado na titulação da amostra e do branco; m_A – massa da amostra liofilizada (mg).

2.5.2 Quantificação do teor de colagénio

O conteúdo de colagénio total foi estimado através da quantificação de hidroxiprolina, utilizando o kit comercial Hydroxyproline Assay Kit (Merck/Sigma-Aldrich, ref.MAK 463), seguindo o protocolo do fabricante com as otimizações para o estudo. As amostras de campânulas, braços e mucos, foram submetidas a uma hidrólise alcalina para a libertação da hidroxiprolina a partir das cadeias de colagénio. A seguir, procedeu-se à reação de cor para a quantificação da hidroxiprolina nas amostras hidrolisadas e finalmente fez-se uma estimativa do colagénio total nas amostras, considerando que, nas medusas, o colagénio contém cerca de 4,3% de hidroxiprolina (Miki et al., 2015).

Para tal, foram pesados 10 mg de cada amostra em tubos Eppendorf de 2 mL, aos quais se adicionaram 400 µL de hidróxido de sódio (NaOH) 10 mol/L, em seguida os tubos foram mantidos em estufa a 120 °C durante 2 horas.

Após o arrefecimento, a mistura foi neutralizada com 400 µL de ácido clorídrico (HCl) 10 mol/L e diluída com 800 µL de H₂O ultrapura. Cada amostra foi homogeneizada em vórtex por 1 minuto e, posteriormente, centrifugada a 14.000 rcf durante 5 minutos a 15 °C, e o sobrenadante foi recolhido. Para a quantificação, preparou-se uma curva padrão de calibração a partir de uma solução mãe de hidroxiprolina (1 mg/mL), diluindo-se 20 µL desta em 380 µL de mistura de hidrólise (NaOH:HCl:H₂O, 1:1:2) para obter uma concentração de trabalho de 50 µg/mL. A partir desta solução, prepararam-se soluções diluídas de concentrações de 37,5; 25; 12,5; 5 e 0 µg/mL.

O ensaio colorimétrico foi realizado em placa de 96 poços, onde se transferiram 20 µL de cada padrão, ou de amostra hidrolisada ou de mistura de hidrólise, seguidos da adição de 90 µL do reagente Mix. Após 10 minutos de incubação à temperatura ambiente, adicionou-se 90 µL do reagente B em cada poço, realizando-se homogeneização por aspiração (up and down) para assegurar a mistura da solução. A placa foi incubada a 37 °C durante 90 minutos e a absorbância foi medida a 560 nm num leitor de microplacas (Synergy H1 Hybrid Reader, BioTek ® Instruments, EUA). Com base nos dados das soluções padrão de hidroxiprolina, construiu-se uma curva de calibração Abs *versus* concentração, tendo-se obtido a seguinte equação: $Abs = 0,019836 \times [Hidroxiprolina](\mu g/mL) + 0,0343$ ($R^2 = 0.999$)

O teor de colagénio das amostras (% MS) foi determinado por interpolação das respetivas absorvâncias na curva de calibração e posterior aplicação da seguinte fórmula:

$$(5) \text{ Colagénio (\% MS)} = \frac{[\text{Hidroxiprolina}] \times V}{1000 \times 0,043 \times m_A} \times 100$$

Sendo [Hidroxiprolina] - concentração ($\mu\text{g/mL}$) resultante da interpolação da curva de calibração; V - volume total da mistura de hidrólise (1,6 mL); m_A - massa de amostra liofilizada (mg)

2.5.3 Quantificação da cinza

A determinação da massa de cinza, representando o conteúdo de matéria mineral da amostra, foi realizada pelo método de incineração direta em mufla (AOAC, 2016). Inicialmente, os cadinhos de porcelana foram limpos, para garantir a remoção de possíveis contaminantes, secos em estufa (Memmert, IF110, Alemanha) a 120 °C e transferidos para um exsiccador para arrefecer até à temperatura ambiente. Os cadinhos, foram identificados e manuseados exclusivamente com luvas de proteção e pinças, enquanto vazios foram pesados numa balança de precisão analítica e as suas massas registadas.

Em seguida, transferiu-se cerca de 50 miligramas (mg) de cada amostra liofilizada para o respetivo cadinho e registou-se a massa exata de cada cadinho com a amostra. Depois os cadinhos foram colocados na mufla (B170, Nabertherm, Alemanha), submetidos a um ciclo de incineração. A temperatura máxima de 500 °C atingida progressivamente (em 2 horas) e mantida pelo período de 4 horas e 30 minutos, tempo que permite a completa volatilização de toda a matéria orgânica (Figura 12).

Após o ciclo de incineração, os cadinhos foram transferidos para um exsiccador para arrefecimento à temperatura ambiente, evitando-se a absorção de humidade atmosférica pela cinza. Uma vez arrefecidos, os cadinhos contendo o resíduo mineral foram novamente pesados e as massas finais registadas, o teor de cinza, expresso em percentagem de massa seca (% MS) foi então calculado por aplicação da seguinte fórmula:

$$(6) \quad \text{Cinza (\% MS)} = \frac{m_{(C+BMS)} - m_{(C+cinza)}}{m_{(C+BMS)}} \times 100$$

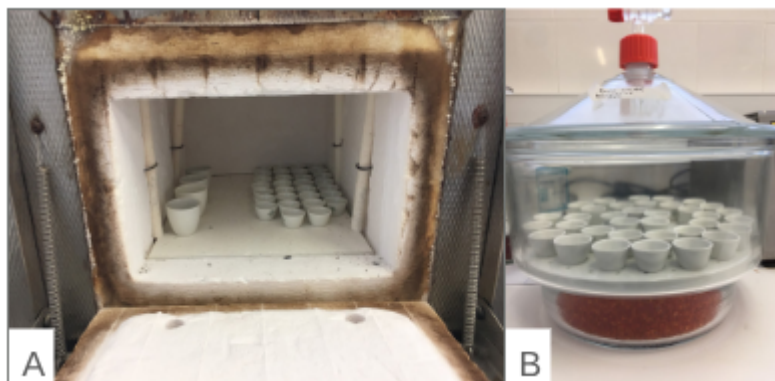


Figura 12. (A) Amostras preparadas para ciclo na mufla, (B) Amostras após ciclo arrefecendo.

2.5.4 Análise para determinação do perfil de ácidos gordos – análise por GC-FID

O perfil de ácidos gordos das amostras foi determinado através da cromatografia gasosa (CG) com detetor de Ionização de Chama (FID) uma das técnicas mais utilizadas por sua elevada sensibilidade na análise de ácidos gordos, inclusive em concentrações vestigiais (Petrović et al., 2010).

Inicialmente as amostras foram submetidas a transesterificação ácida para a obtenção dos esteres metílicos de ácidos gordos (em inglês fatty acid methyl ester – FAME). Para isso, em tubos de vidro roscados, colocaram-se aproximadamente 20 mg de cada amostra (balança analítica) e adicionaram-se 2 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 2% em metanol (MeOH).

A seguir, as amostras foram colocadas em banho-maria, com temperatura controlada de 80 °C durante 2 horas sendo monitoradas durante este período para se houvesse volume perdido por evaporação ser repostado caso fosse necessário, para garantir uma reação eficaz. Após o

arrefecimento até à temperatura ambiente, foi adicionado 1 mL de Água Ultrapura (Milli-Q) aos frascos e em seguida 1 mL de Hexano como solvente extrator.

O conteúdo de cada frasco foi agitado vigorosamente em vórtex por 1 minuto e de seguida, as amostras foram centrifugadas a $1500 \times g$ durante 5 minutos para promover a separação eficiente das fases. Finalmente, transferiram-se 400 μL da fase orgânica superior para frascos de vidro (vials) aos quais se adicionaram 50 μL de FAME C21:0 (padrão interno) a 500 $\mu\text{g/mL}$ em hexano.

A análise das amostras foi feita num cromatógrafo gasoso Finnigan TRACE GC Ultra (Thermo Electron Corporation, Waltham, Milão, Itália), equipado com uma coluna capilar Thermo TR-FAME (60 m $\times$ 0,25 mm DI, espessura de filme de 0,25 μm), um auto sampler AS 3000 Thermo Electron Corporation e um detetor de ionização de chama (em inglês, Flame ionization detector - FID). O injetor (a operar em modo *splitless*) e o detetor, foram programados para 250 $^{\circ}\text{C}$, e 280 $^{\circ}\text{C}$, respetivamente. Para a alimentação da chama do detetor, utilizou-se Hidrogénio (H_2) e Ar sintético fornecidos em caudais de 35 e 350 mL/min, respetivamente. Utilizou-se Hélio (He) como gás de arraste (a 1,2 mL/min). A temperatura do forno foi programada inicialmente para 100 $^{\circ}\text{C}$ durante 0,1 min, aumentando depois 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até atingir 150 $^{\circ}\text{C}$ (manteve-se neste patamar durante 1 min). De seguida, houve um novo aumento de temperatura a 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até atingir 200 $^{\circ}\text{C}$ (durante 15 min). Por último, fez-se um aumento de 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 235 $^{\circ}\text{C}$ (por 5 min).

A identificação dos FAMES foi feita por comparação dos tempos de retenção das amostras, com os de misturas padrão Supelco 37 e PUFA 1 (Sigma-Aldrich, EUA), analisadas nas mesmas condições das amostras. O teor de ácidos gordos foi expresso em percentagem relativamente à área total dos picos cromatográficos (% ácidos gordos totais), e a quantidade absoluta de cada ácido gordo foi calculada através do método de padrão interno, por aplicação da seguinte fórmula:

$$(7) \quad AG \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mg}} \right) = \frac{\frac{A_{AG} \times [PI] \times V_{PI}}{A_{PI} \times m(\text{amostra})} \times V_{\text{Hexano}}}{V_{\text{extrato}}}$$

Sendo: *AG* – o ácido gordo a ser quantificado; *PI* – Padrão interno (C21 FAME); *VPI* – volume da solução de padrão interno adicionado ao vial (50 µL); [*PI*] – concentração do PI (µg/mL); *Vextrato* – volume (µL) de extrato (fase orgânica) contendo os FAMES adicionado ao vial; *V_{Hexano}* – volume de hexano usado para extração dos FAMES das amostras (1 mL); *ma* – massa das amostras (mg).

2.6 Análise estatística

Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio-padrão, considerando três réplicas biológicas por tratamento.

A influência do fotoperíodo e da classe de tamanho no diâmetro da campânula foi avaliada através de uma ANOVA bifatorial, considerando como fatores o fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua) e a classe de tamanho (pequena, média e grande). Para avaliar diferenças específicas entre tratamentos dentro de cada classe de tamanho, foram realizadas comparações independentes utilizando o teste não paramétrico de Wilcoxon, com correção de p-values pelo método de Holm.

A distribuição dos indivíduos pelas classes de tamanho entre tratamentos foi analisada através de um teste exato de Fisher aplicado a tabelas de contingência.

Foi utilizado o teste t de Welch para a comparação entre os regimes de iluminação (12 h e 24 h) nas diferentes frações anatómicas nomeadamente para a massa fresca, massa seca, humidade, proteína, colagénio e cinzas.

As comparações entre campânula e braços orais foram realizadas através do teste t para amostras emparelhadas, uma vez que ambas as frações pertenciam ao mesmo pool de medusas.

O perfil de ácidos gordos foi analisado através de PERMANOVA, sendo os padrões de ordenação visualizados por Principal Coordinates Analysis (PCO) e a contribuição dos diferentes ácidos gordos para a dissimilaridade entre grupos avaliada por SIMPER.

Todas as análises foram realizadas no software R (versão 4.5.2, R Core Team), considerando um nível de significância de $\alpha = 0,05$.

3. Resultados

As análises biométricas foram realizadas a nível individual, enquanto as determinações de composição bioquímica e perfil de ácidos gordos foram efetuadas a partir de pools dos indivíduos, garantindo assim biomassa suficiente para as análises laboratoriais.

3.1 Dados biométricos: Análise individual

Os diâmetros da campânula abrangeram todo o intervalo definido em Material e Métodos, confirmando a presença simultânea de indivíduos pertencentes às três classes de tamanho em ambos os tratamentos.

O fotoperíodo não teve efeito significativo no diâmetro da campânula (ANOVA bifatorial, $p = 0,953$). Como esperado, a classe de tamanho apresentou diferenças altamente significativas ($p < 0,001$), validando a classificação dos indivíduos em classes pequena, média e grande. Não foi detetada interação entre fotoperíodo e classe de tamanho ($p = 0,993$), indicando que o regime de luz não afetou o tamanho corporal dentro de cada classe (Figura 13).

Para confirmar este padrão, foram realizadas comparações independentes entre tratamentos dentro de cada classe de tamanho (teste de Wilcoxon). Em nenhuma das classes (pequena, média ou grande) foram observadas diferenças significativas entre tratamentos (todas as $p > 0,05$ após correção para comparações múltiplas), apresentando valores médios de diâmetro praticamente idênticos entre 12 h e 24 h. Estes resultados demonstram que o fotoperíodo não influenciou o crescimento corporal individual das medusas.

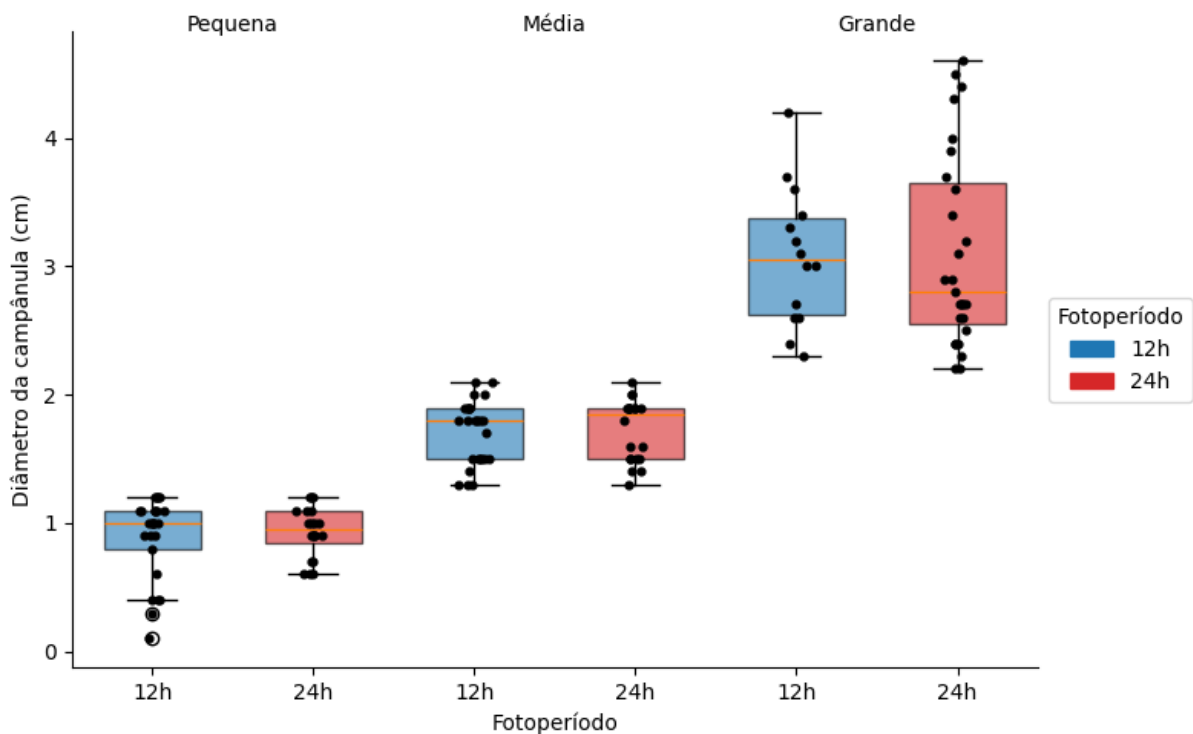


Figura 13. Distribuição do diâmetro da campânula (cm) de medusas cultivadas sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua), apresentada separadamente por classe de tamanho (pequena, média e grande). Os boxplots representam a mediana e o intervalo interquartil; os pontos correspondem a medições individuais.

Dado que não foram detetadas diferenças no tamanho individual, analisou-se a distribuição dos indivíduos pelas classes de tamanho. A estrutura de tamanhos diferiu entre tratamentos (Figura 14). No fotoperíodo 12 h luz : 12 h escuro, os indivíduos distribuíram-se de forma relativamente equilibrada entre classes, correspondendo a 39% de indivíduos pequenos, 39% médios e 22% grandes. Em contraste, no regime de luz contínua verificou-se maior proporção de indivíduos na classe grande (40%), acompanhada por menor frequência de indivíduos pequenos (30%) e médios (30%).

Apesar desta tendência consistente, as diferenças não atingiram significância estatística (teste exato de Fisher, $p = 0,074$). Assim, o fotoperíodo não alterou o tamanho individual das medusas, mas modificou a proporção de indivíduos presentes em cada classe de tamanho.

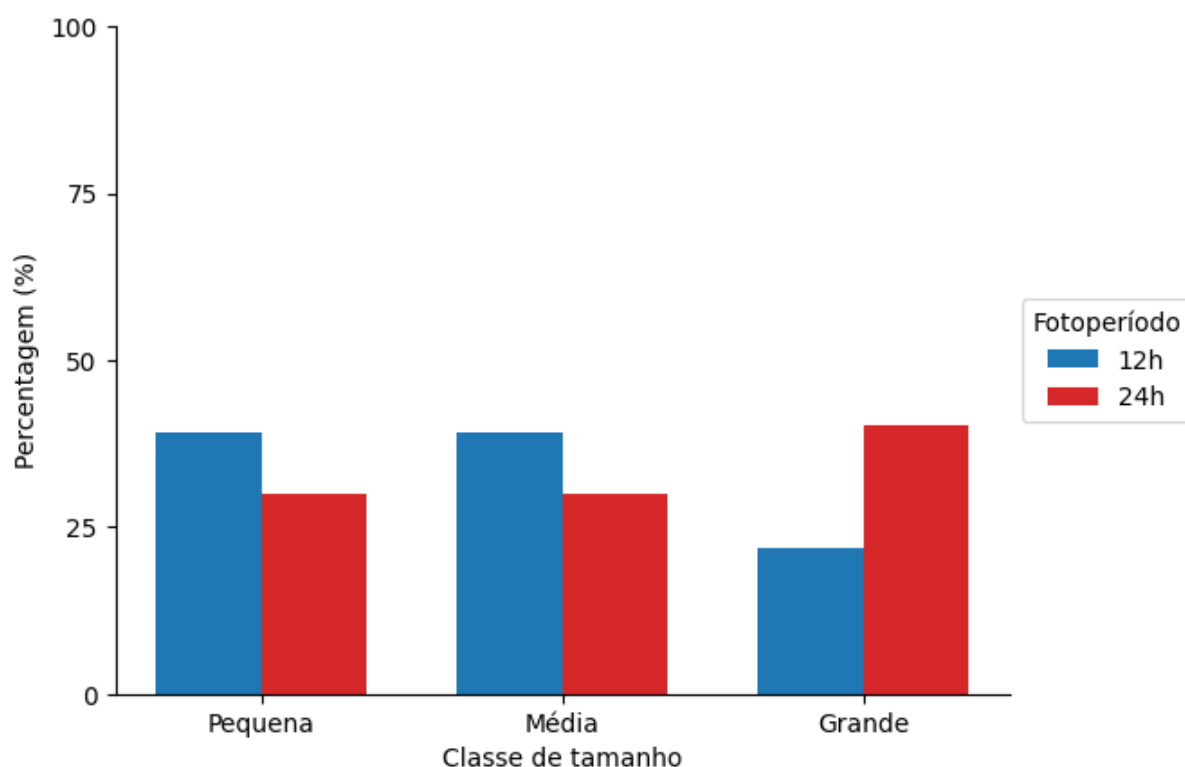


Figura 14. Estrutura de tamanhos da população de medusas cultivadas sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua). Os indivíduos foram classificados em classes pequena ($\leq 1,2$ cm), média ($> 1,2$ – $2,1$ cm) e grande ($> 2,1$ cm) com base no diâmetro da campânula.

Apesar desta tendência consistente, as diferenças não atingiram significância estatística (teste exato de Fisher, $p = 0,074$).

Estes resultados indicam que o fotoperíodo não alterou o tamanho individual das medusas, mas influenciou a proporção de indivíduos presentes em cada classe de tamanho.

Dado que o fotoperíodo não influenciou o diâmetro da campânula, a massa fresca foi analisada como indicador complementar da condição corporal das medusas.

Considerando todos os indivíduos, a massa fresca média foi significativamente superior sob iluminação contínua ($3,13 \pm 4,17$ g; $n = 67$) comparativamente ao regime 12 h luz : 12 h escuro ($1,73 \pm 1,92$ g; $n = 64$) (ANOVA bifatorial, $F_{1,125} = 10,01$; $p = 0,0019$; Figura 15).

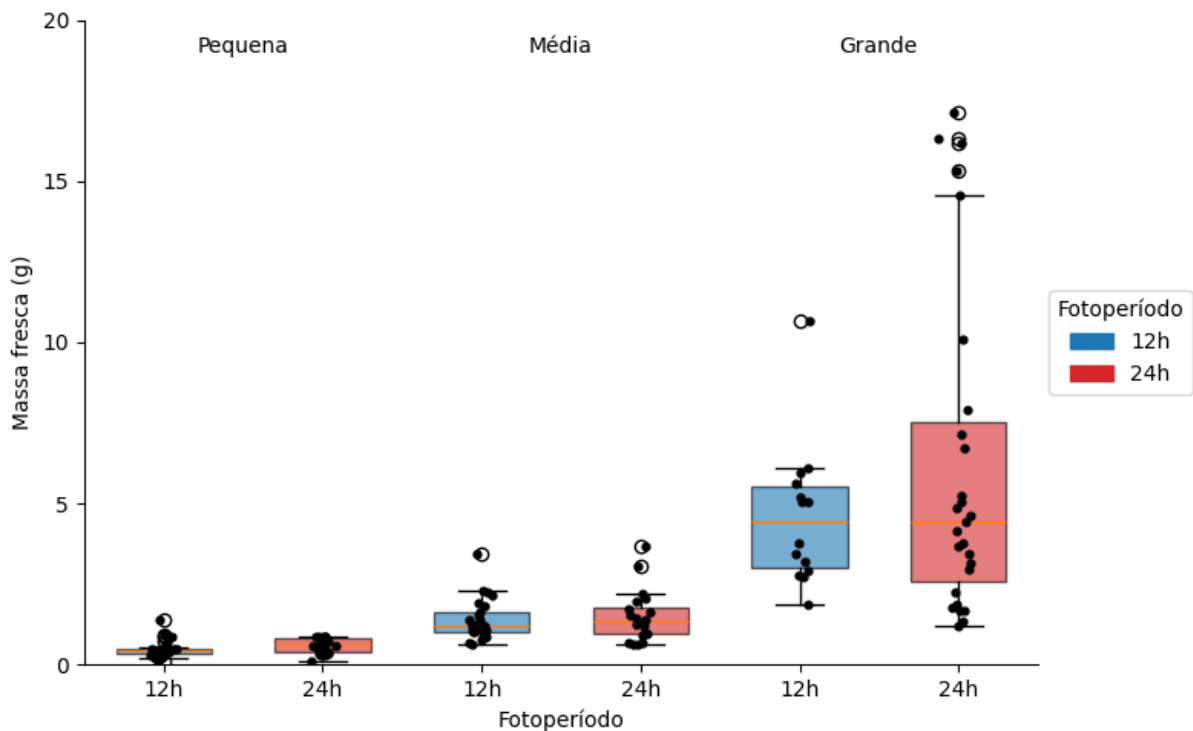


Figura 15. Massa fresca (média $\pm$ desvio padrão) de *Phyllorhiza punctata* cultivada sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua), apresentada por classe de tamanho (pequena, média e grande).

Como esperado, a classe de tamanho teve um efeito altamente significativo na massa fresca ($p < 0,001$), confirmando que indivíduos classificados como pequenos, médios e grandes diferem claramente em biomassa (Figura 15). No entanto, não foi detetada interação significativa entre fotoperíodo e classe de tamanho ($p = 0,224$), indicando que o efeito do regime de luz ocorreu de forma consistente em todas as classes de tamanho.

A representação gráfica evidencia que, dentro de cada classe de tamanho, os indivíduos mantidos sob iluminação contínua tendem a apresentar maior massa fresca, embora com elevada variabilidade individual (Figura 15). Assim, embora o fotoperíodo não tenha afetado o tamanho estrutural das medusas, influenciou a sua biomassa individual.

Este padrão indica que as medusas não se tornaram maiores, mas tornaram-se mais pesadas.

A relação entre a massa fresca e o diâmetro da campânula evidenciou um padrão consistente entre tratamentos (Figura 16). Em ambos os fotoperíodos observou-se uma relação positiva entre o diâmetro e a massa fresca, indicando que medusas maiores apresentaram maior biomassa corporal.

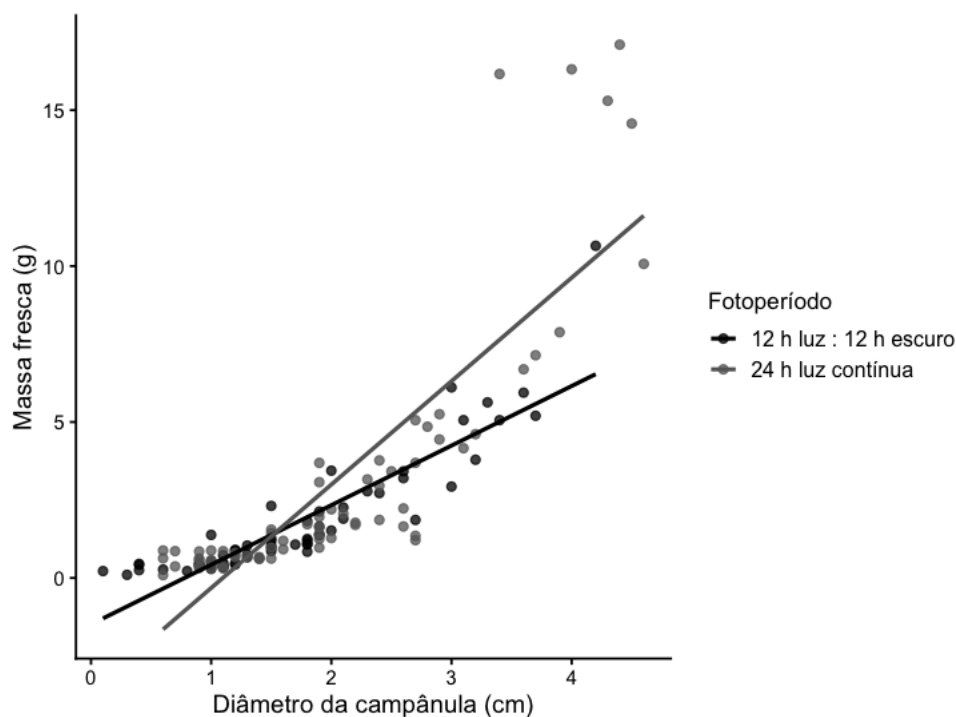


Figura 16. Relação entre o diâmetro da campânula (cm) e a massa fresca (g) em *Phyllorhiza punctata* cultivada sob dois regimes de fotoperíodo (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua). As linhas representam regressões lineares para cada tratamento. Para um mesmo diâmetro, as medusas mantidas sob luz contínua apresentaram maior massa fresca, indicando melhor condição corporal sem alteração do crescimento estrutural.

Contudo, para um mesmo diâmetro da campânula, as medusas mantidas sob luz contínua (24 h) apresentaram sistematicamente maior massa fresca do que as cultivadas sob fotoperíodo 12 h luz : 12 h escuro. Esta diferença tornou-se mais evidente em indivíduos de maior dimensão, onde a divergência entre as regressões foi mais acentuada.

Este padrão demonstra que o fotoperíodo não influenciou o crescimento estrutural (diâmetro), mas afetou a massa corporal associada a esse tamanho. Assim, indivíduos com igual tamanho externo apresentaram diferente biomassa interna consoante o regime luminoso.

3.1.1 Massa fresca (MF, g/ind)

A massa fresca das medusas apresentou diferenças claras entre os tratamentos de 12 h e 24 h de luz em todas as frações analisadas. Na campânula, o MF médio aumentou de $1,78 \pm 1,24$ g em 12 h para $3,67 \pm 3,16$ g em 24 h de luz. Nos braços orais, observou-se igualmente um

aumento da MF médio de $0,91 \pm 0,55$ g (12 h) para $1,64 \pm 1,32$ g (24 h) entre os dois regimes luminosos. Em contraste, o muco apresentou valores inferiores de massa fresca e uma redução sob 24 h de luz ($0,62 \pm 0,38$ g em 12 h para $0,39 \pm 0,22$ g em 24 h) (Figura 17).

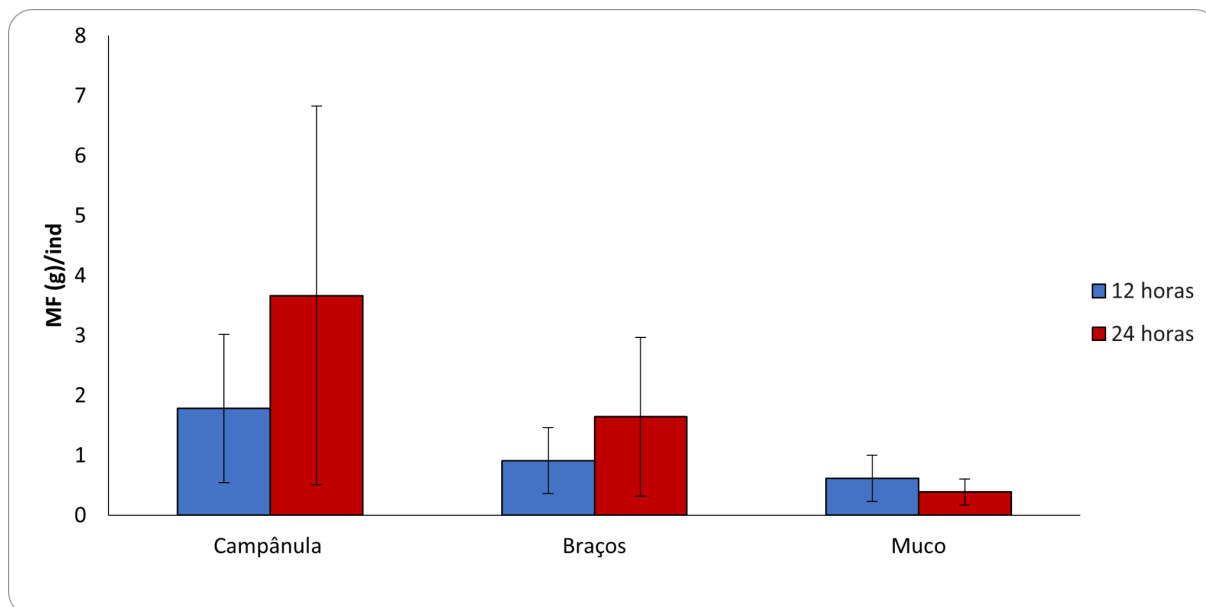


Figura 17. Massa fresca (g) das diferentes frações anatômicas (campânula, braços orais e muco) de *Phyllorhiza punctata* nos tratamentos de 12 h e 24 h de luz.

3.1.2 Massa seca (MS, g/ind)

A massa seca das medusas variou entre as frações anatômicas e entre os regimes de luz. Na campânula, a MS média aumentou de $0,070 \pm 0,048$ g no tratamento de 12 h para $0,145 \pm 0,127$ g em 24 h de luz. Nos braços orais, observou-se igualmente um aumento da massa seca média de $0,039 \pm 0,024$ g (12 h) para $0,062 \pm 0,047$ g (24 h). Em contraste, o muco apresentou valores residuais da massa seca em ambos os tratamentos, com $0,0144 \pm 0,0079$ g em 12 h e $0,0121 \pm 0,0066$ g em 24 h de luz (Figura 18). Os valores médios de MS foram superiores sob 24 h de luz nas frações estruturais, acompanhando o padrão observado para a massa fresca.

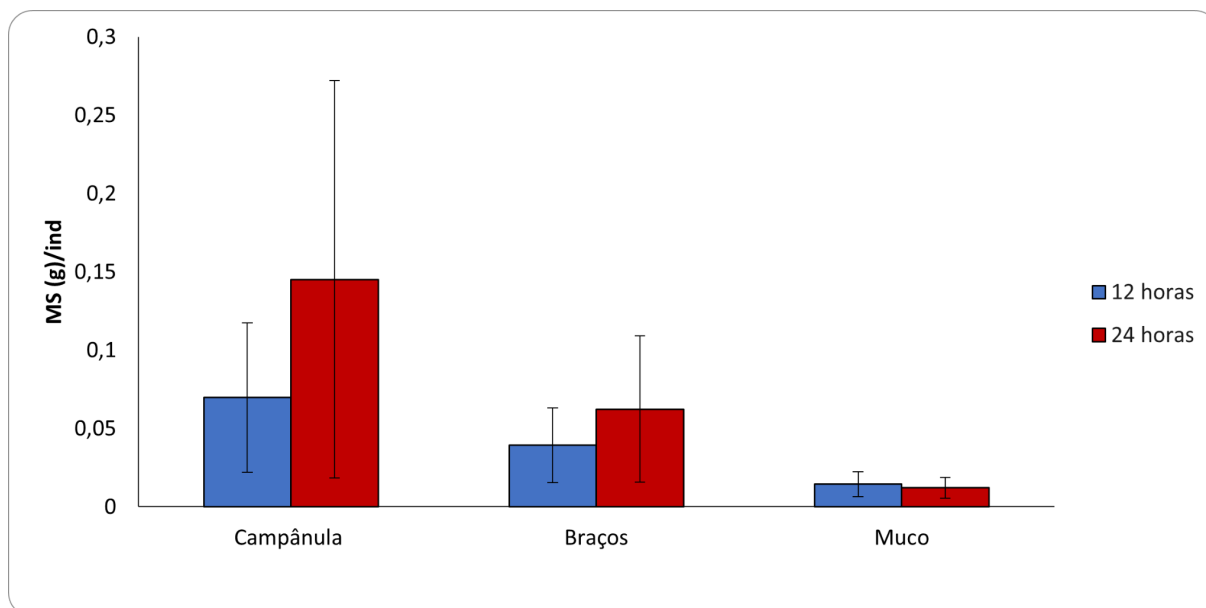


Figura 18. Massa seca (g) das frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* sob diferentes regimes de luz (12 h e 24 h).

3.2 Composição bioquímica

3.2.1 Humidade (%)

A percentagem de humidade apresentou valores elevados em todas as frações anatómicas e em ambos os regimes de luz. Na campânula, observaram-se valores semelhantes, com $96,05 \pm 0,09\%$ em 12 h e $95,9 \pm 0,3\%$ em 24 h. Nos braços orais, a humidade média foi de $95,7 \pm 0,1\%$ em 12 h e $95,8 \pm 0,8\%$ em 24 h de luz. O muco apresentou os maiores teores de humidade, com $97,6 \pm 0,3\%$ em 12 h e $96,9 \pm 0,6\%$ em 24 h de luz (Figura 19). De forma geral, o muco destacou-se como a fração com maior conteúdo de água, enquanto as diferenças entre tratamentos foram reduzidas.

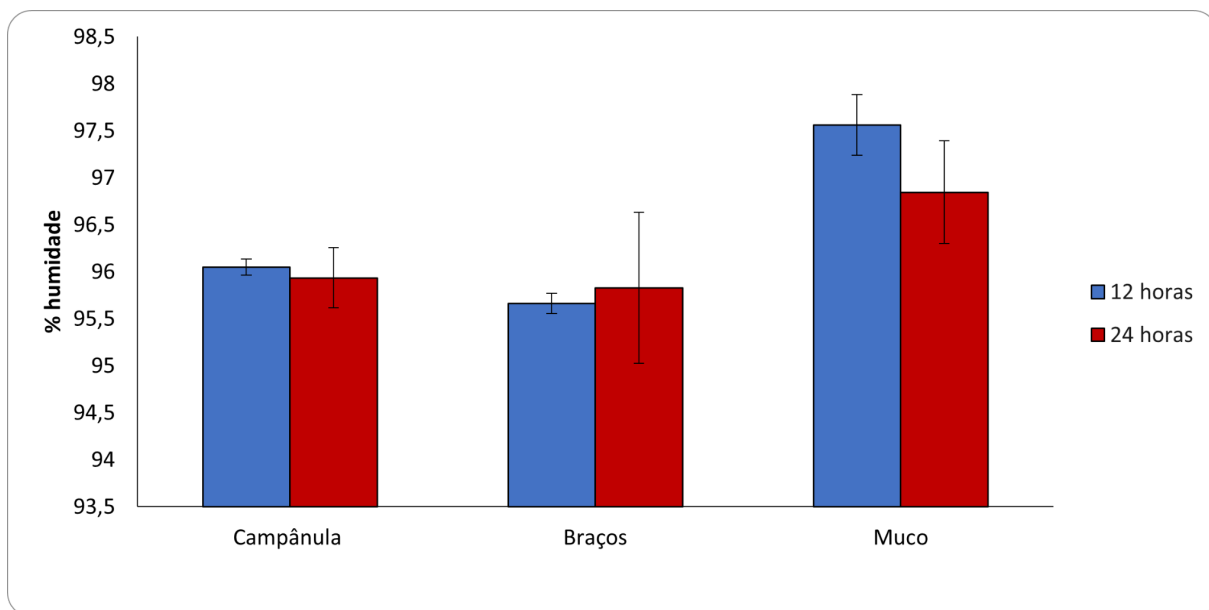


Figura 19. Percentagem de humidade (%) nas frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* cultivadas sob 12 h e 24 h de luz.

3.2.2 Proteína (%)

O teor de proteína, variou entre as frações anatómicas e entre os regimes de luz. Na campânula, os valores médios de proteína foram inferiores aos observados nos braços orais, com $9,8 \pm 0,6\%$ em 12 h e $7,4 \pm 0,6\%$ em 24 h. Nos braços orais, a percentagem de proteína foi de $21 \pm 2\%$ em 12 h, diminuindo para $16 \pm 4\%$ em 24 h de luz. (Figura 20). Indicando maiores teores proteicos nas frações estruturais, particularmente sob o regime de 12 h de luz.

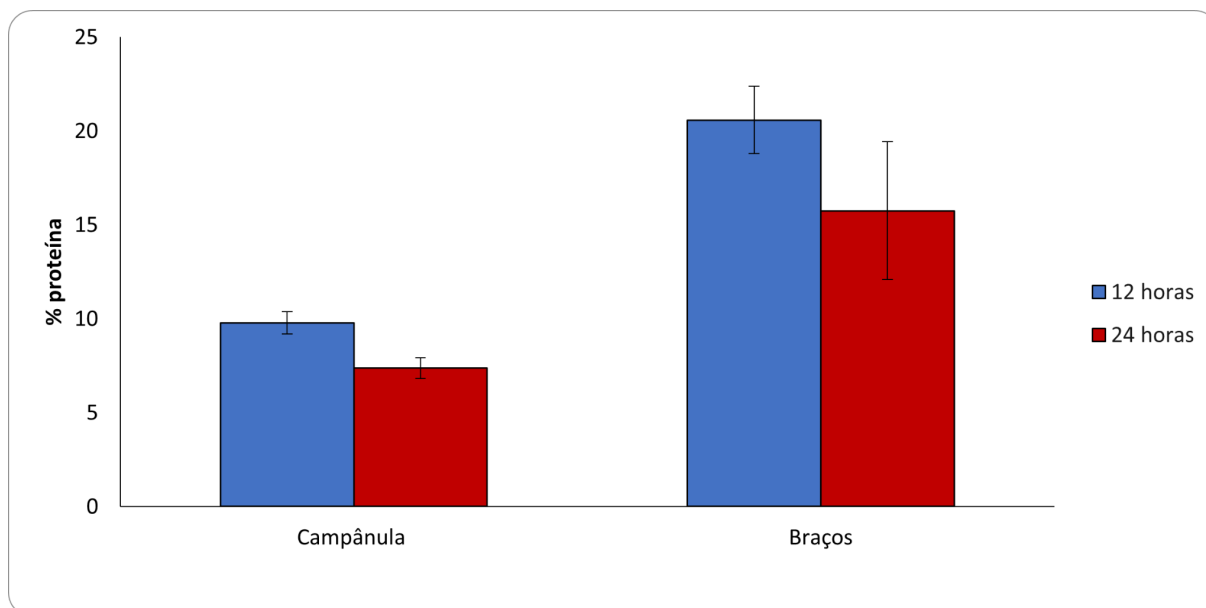


Figura 20. Teor de proteína (%) nas frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* sob 12 h e 24 h de luz.

3.2.3 Colagénio (%)

O colagénio apresentou uma distribuição diferenciada entre as frações anatómicas. Na campânula, os valores foram mais estáveis entre os tratamentos, com $4,1 \pm 0,1\%$ em 12 h e $4,1 \pm 0,5\%$ em 24 h. Nos braços orais, o teor médio de colagénio foi de $14 \pm 7\%$ em 12 h, diminuindo para $4,4 \pm 0,4\%$ em 24 h de luz. O muco apresentou os menores teores de colagénio, com $0,5 \pm 0,1\%$ em 12 h e $0,6 \pm 0,3\%$ em 24 h de luz (Figura 21). O desvio padrão foi mais elevado nos braços orais, apresentando maior variabilidade entre réplicas.

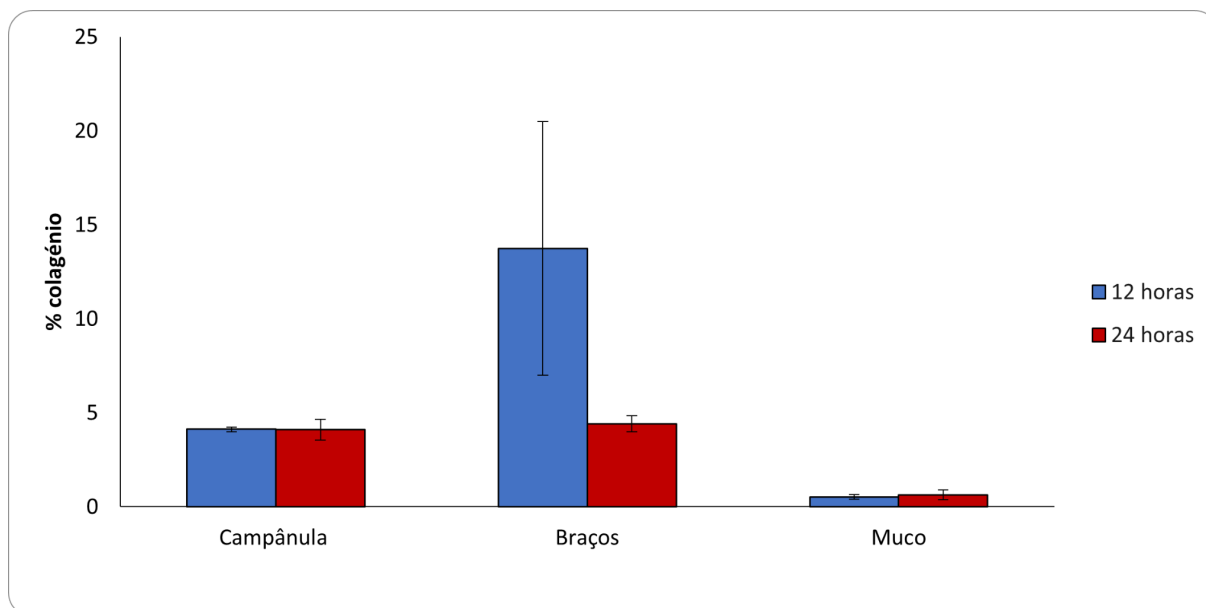


Figura 21. Teor de colagénio (% de matéria seca) nas frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* nos tratamentos de 12 h e 24 h de luz.

3.2.4 Cinza (%)

O teor de cinza, indicador do conteúdo mineral, variou entre as frações anatómicas e os regimes de luz. Na campânula, o teor de cinza foi de $67 \pm 5\%$ em 12 h e $71 \pm 2\%$ em 24 h. Nos braços orais, os valores médios de cinzas aumentaram de $52 \pm 9\%$ em 12 h para $62 \pm 3,7\%$ em 24 h de luz. O muco apresentou os valores mais elevados de cinzas em ambos os tratamentos, com $77,4 \pm 0,5\%$ em 12 h e $73,5 \pm 0,8\%$ em 24 h de luz (Figura 22). De forma geral, o muco destacou-se pelo elevado conteúdo mineral, enquanto se observaram valores superiores de cinzas sob 24 h de luz nas frações estruturais.

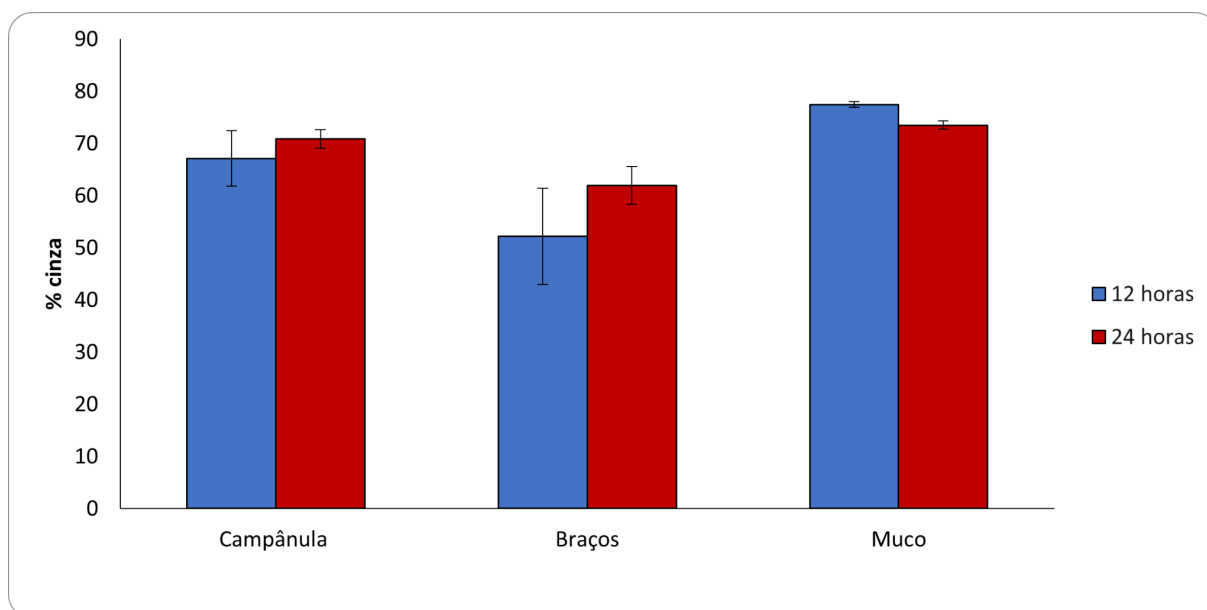


Figura 22. Conteúdo de cinza (% massa seca) nas frações anatômicas de *Phyllorhiza punctata* sob diferentes regimes de luz.

3.2.5 Perfil de ácidos gordos

A distribuição percentual das classes de ácidos gordos revelou diferenças acentuadas entre as frações anatômicas e entre os regimes de luz (Figura 23).

Nos braços orais, os ácidos gordos saturados (SFA) foram predominantes em ambos os tratamentos, representando $88 \pm 1\%$ sob 12 h de luz e $89 \pm 1\%$ sob 24 h de luz. Os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) apresentaram valores de $12 \pm 1\%$ em 12 h e $11 \pm 1\%$ em 24 h. A fração de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) apresentou valores reduzidos, com $0,27 \pm 0,43\%$ no tratamento de 12 h e valores de zero no tratamento de 24 h.

Nas campânulas observou-se uma maior diversidade de ácidos gordos e uma nítida influência das condições de luz na composição lipídica das amostras. Na condição de 12 h de luz, os SFA representaram $49 \pm 9\%$, os MUFA $20 \pm 4\%$ e os PUFA $31 \pm 9\%$. Sob 24 h de luz, observou-se um aumento de SFA para $66 \pm 9\%$, enquanto os MUFA diminuíram para $10 \pm 3\%$ e os PUFA para $24 \pm 9\%$.

De forma geral, os braços orais apresentaram um perfil lipídico predominante de SFA e com reduzida presença de PUFA, enquanto a campânula evidenciou maior diversidade na composição das classes de ácidos gordos.

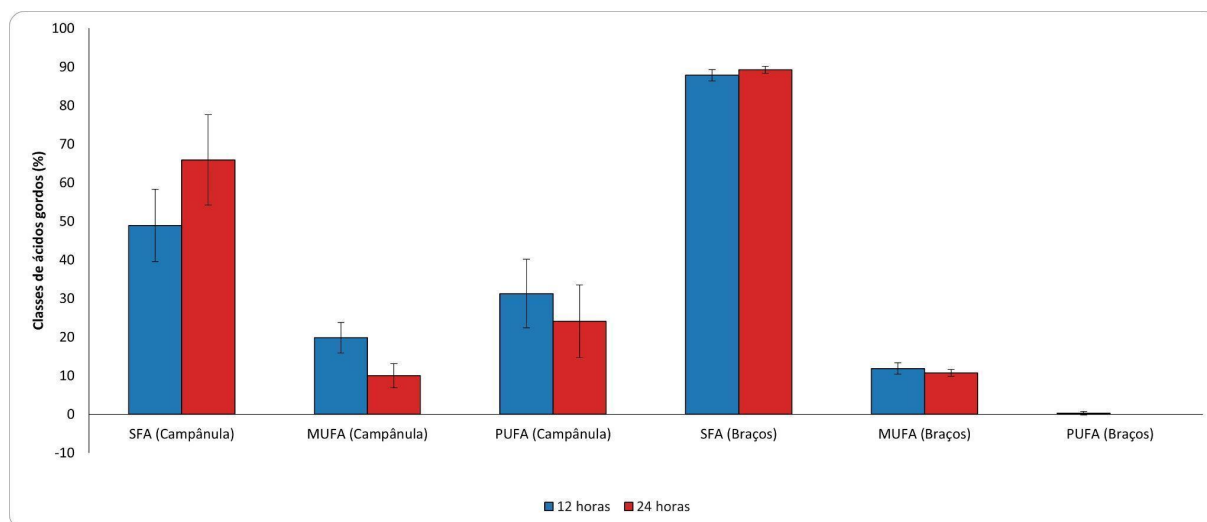


Figura 23. Classes de ácidos gordos (% De Ácidos Gordos totais) nas frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* sob diferentes regimes de luz.

Na tabela I está descrito o perfil de ácidos gordos da campânula e braços orais da *Phyllorhiza punctata* cultivada nas condições de 12h e 24h de luz.

Tabela I – Perfil de ácidos gordos das frações corporais (campânula e braços) da medusa *Phyllorhiza punctata* cultivada nas condições de 12h e 24h de luz.

% AG Totais	12h campânula			24h campânula			12h braços			24h braços		
C14:0	0,13	±	0,08	1,3	±	0,9	0,6	±	0,3	0,6	±	0,3
C15:0	2,9	±	0,7	3,9	±	0,7	2,1	±	1,3	1,5	±	1,7
C16:0	22	±	5	32	±	7	34	±	2	33	±	2
C17:0	1,9	±	0,3	2,2	±	0,5	5,2	±	0,4	5,4	±	0,3
C18:0	21	±	4	26	±	4	45	±	1	48	±	2
C20:0	0,2	±	0,1	0,1	±	0,1	0,6	±	0,1	0,4	±	0,1
C22:0	0,1	±	0,1	0,01	±	0,03	0,02	±	0,04	0,6	±	0,6
C23:0	n.d.			n.d.			0,10	±	0,08	n.d.		
C14:1 n5	0,3	±	0,2	0,1	±	0,1	1,1	±	0,1	0,7	±	0,2
C16:1 n9	0,25	±	0,05	0,05	±	0,09	n.d.			n.d.		
C16:1 n7	3	±	2	2,3	±	0,9	7,6	±	0,8	7,4	±	0,6
C17:1 n7	0,6	±	0,1	n.d.			2,4	±	0,5	2,0	±	0,4

C18:1 n9 <i>trans</i>	0,14	±	0,09	0,06	±	0,08		n.d.		n.d.		
C18:1 n9 <i>cis</i>	10,6	±	2,8	5,6	±	2,4	0,02	±	0,04		n.d.	
C18:1 n7	4,2	±	0,9	1,9	±	1,1	0,7	±	0,2	0,5	±	0,3
C20:1 n9	0,3	±	0,1	0,03	±	0,07		n.d.			n.d.	
C16:3 n4		n.d.		2,3	±	1,1		n.d.			n.d.	
C16:4 n1	1,2	±	0,3	2,2	±	0,5	0,3	±	0,4		n.d.	
C18:2 n6	3,7	±	0,8	1,8	±	1,3		n.d.			n.d.	
C18:3 n3 (ALA)	11	±	3	6	±	3		n.d.			n.d.	
C18:4 n3	1,6	±	0,8	0,7	±	0,5		n.d.			n.d.	
C20:2 n6	0,02	±	0,05	0,01	±	0,03		n.d.			n.d.	
C20:3 n6	1,7	±	0,7	1,2	±	0,6		n.d.			n.d.	
C20:3 n3	0,7	±	0,3	0,2	±	0,2		n.d.			n.d.	
C20:4 n6 (ARA)	8	±	4	7	±	3		n.d.			n.d.	
C20:4 n2	0,9	±	0,4	0,4	±	0,3		n.d.			n.d.	
C20:5 n3 (EPA)	1,9	±	0,7	1,7	±	0,9		n.d.			n.d.	
C22:5 n3	0,2	±	0,1	0,2	±	0,1		n.d.			n.d.	
C22:6 n3 (DHA)	0,6	±	0,6	0,9	±	0,5		n.d.			n.d.	
SFA	49	±	9	66	±	12	88	±	1	89	±	1
MUFA	20	±	4	10	±	3	12	±	1	11	±	1
PUFA	31	±	9	24	±	9	0,3	±	0,4		n.d.	
n-6	13	±	5	10	±	5		—			—	
outros PUFA	2,1	±	0,5	5	±	1		—			—	
n-3/n- 6	1,3	±	0,4	1,0	±	0,3		—			—	
Total (ug/mg)	7	±	2	3,4	±	0,9	5,2	±	1,5	4,7	±	1,6

n.d.: não detetado; ALA: Ácido α -linoleico; ARA: Ácido Araquidónico; EPA: Ácido Eicosapentaenoico; DHA: Ácido Docosaenoico; SFA: Total de ácidos gordos saturados (*Saturated fatty acids*); MUFA: Total de ácidos gordos monoinsaturados (*Monounsaturated fatty acids*); PUFA: Total de ácidos gordos poliinsaturados (*Poliunsaturated fatty acids*); n-3: Total de ácidos gordos poliinsaturados ómega 3; n-6: Total de ácidos gordos poliinsaturados ómega 6

Em relação aos ácidos gordos saturados (SFA) individuais, o ácido palmítico (C16:0) foi o mais abundante na campânula, apresentando valores de $22 \pm 5\%$ em 12 h e $32 \pm 7\%$ em 24 h, com valores próximos do ácido esteárico (C18:0), que apresentou $21 \pm 4\%$ em 12 h e $26 \pm 4\%$ em 24 h. Nos braços orais, o C18:0 foi o ácido gordo saturado predominante, com valores de $45 \pm 1\%$ em 12 h e $48 \pm 2\%$ em 24 h, superiores aos observados para o C16:0, que apresentou $34 \pm 2\%$ em 12 h e $33 \pm 2\%$ em 24 h.

Entre os restantes ácidos gordos saturados identificados, o ácido pentadecanoico (C15:0) apresentou valores de $2,9 \pm 0,7\%$ em 12 h e $3,9 \pm 0,7\%$ em 24 h na campânula, enquanto nos braços orais foram registados $2,1 \pm 1,3\%$ em 12 h e $1,5 \pm 1,7\%$ em 24 h. O ácido heptadecanoico (C17:0) apresentou $1,9 \pm 0,3\%$ em 12 h e $2,2 \pm 0,5\%$ em 24 h na campânula, enquanto nos braços orais foram observados valores de $5,2 \pm 0,4\%$ em 12 h e $5,4 \pm 0,3\%$ em 24 h. Os restantes ácidos gordos saturados foram detetados apenas em proporções reduzidas no perfil lipídico total.

No que diz respeito aos ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) individuais, na campânula os compostos mais abundantes corresponderam aos ácidos gordos C18:1 (n-7 e n-9), seguidos pelos C16:1 (n-9 e n-7). Nos braços orais, os C16:1 constituíram os ácidos gordos monoinsaturados mais abundantes, enquanto os C18:1 ocorreram em proporções reduzidas. Também foi detetado nos braços orais o ácido gordo C17:1, que não foi identificado na fração da campânula.

Na campânula, os ácidos gordos polinsaturados (PUFA) apresentaram valores de $31 \pm 9\%$ em 12 h, diminuindo para $24 \pm 9\%$ em 24 h de luz, evidenciando uma redução do teor sob iluminação contínua.

Nos braços orais, os PUFA foram praticamente inexistentes, tendo sido detetado apenas um ácido gordo polinsaturado, C16:4 n-1, no tratamento de 12 h de luz, com valores reduzidos ($0,3 \pm 0,4\%$), não tendo sido detetados no tratamento de 24 h.

Os PUFA mais abundantes na campânula foram o ácido α -linolénico (ALA, C18:3 n-3) ($11 \pm 3\%$) e o ácido araquidónico (ARA, C20:4 n-6) ($8 \pm 4\%$).

Em ordem de abundância foram obtidos, os ácidos gordos da série n-6, C18:2 n-6 ($4 \pm 1\%$) e C20:3 n-6 ($2 \pm 1\%$), os ácidos gordos da série n-3, incluindo o EPA (C20:5 n-3) ($2 \pm 1\%$), o C18:4 n-3 ($2 \pm 1\%$) e o DHA (C22:6 n-3) ($1 \pm 1\%$). Foram ainda identificados outros PUFA, como o C16:4 n-1 e o C20:4 n-2, em proporções reduzidas.

Os ácidos gordos das séries n-3 e n-6 foram detetados exclusivamente na campânula. Com valores representados em n-3 de $16 \pm 4\%$ no regime de 12 h, diminuindo para $9 \pm 5\%$ em 24 h, possibilitando observar uma redução do conteúdo de ácidos gordos n-3 na campânula associada ao aumento do período de luz. O conteúdo de ácidos gordos da série n-6 apresentaram valores de $13 \pm 5\%$ em 12 h e $10 \pm 5\%$ em 24 h, havendo também uma redução sob iluminação contínua.

A razão n-3/n-6 foi determinada apenas para a campânula, uma vez que somente nesta fração foram observados, com valores de $1,3 \pm 0,4$ em 12 h e $1,0 \pm 0,3$ em 24 h. Evidenciando uma redução da razão n-3/n-6 sob iluminação contínua, refletindo alterações no balanço relativo entre os ácidos gordos das séries n-3 e n-6 na campânula (Figura 24).

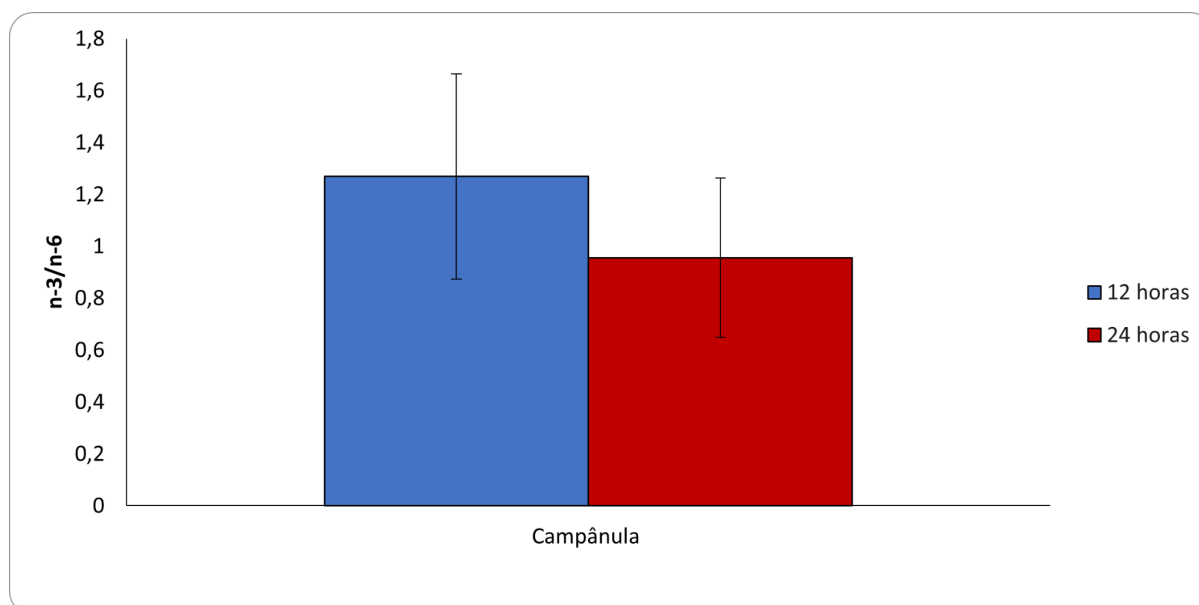


Figura 24. Razão entre ácidos gordos das séries n-3 e n-6 na campânula de *Phyllorhiza punctata* sob diferentes regimes de luz (12 h e 24 h).

3.2.6 Teor absoluto de ácidos gordos (*total fatty acids* - $\mu\text{g}/\text{mg}$)

O teor absoluto de ácidos gordos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) foi utilizado como indicador indireto do conteúdo lipídico das amostras, uma vez que não foi possível quantificar o teor de lípidos totais das amostras, devido à limitação de biomassa disponível.

O teor absoluto de ácidos gordos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) variou entre as frações anatómicas e entre os regimes de luz. Na campânula, o total de ácidos gordos foi superior no tratamento de 12 h $7 \pm 2 \mu\text{g}/\text{mg}$ em comparação com 24 h de luz $3,4 \pm 0,9 \mu\text{g}/\text{mg}$. Nos braços orais, os valores foram mais semelhantes entre tratamentos, com $5 \pm 1 \mu\text{g}/\text{mg}$ em 12 h e $5 \pm 2 \mu\text{g}/\text{mg}$ em 24 h. Demonstrando redução do conteúdo lipídico total da campânula sob iluminação contínua, enquanto os braços orais apresentaram valores relativamente estáveis entre os regimes (Figura 25).

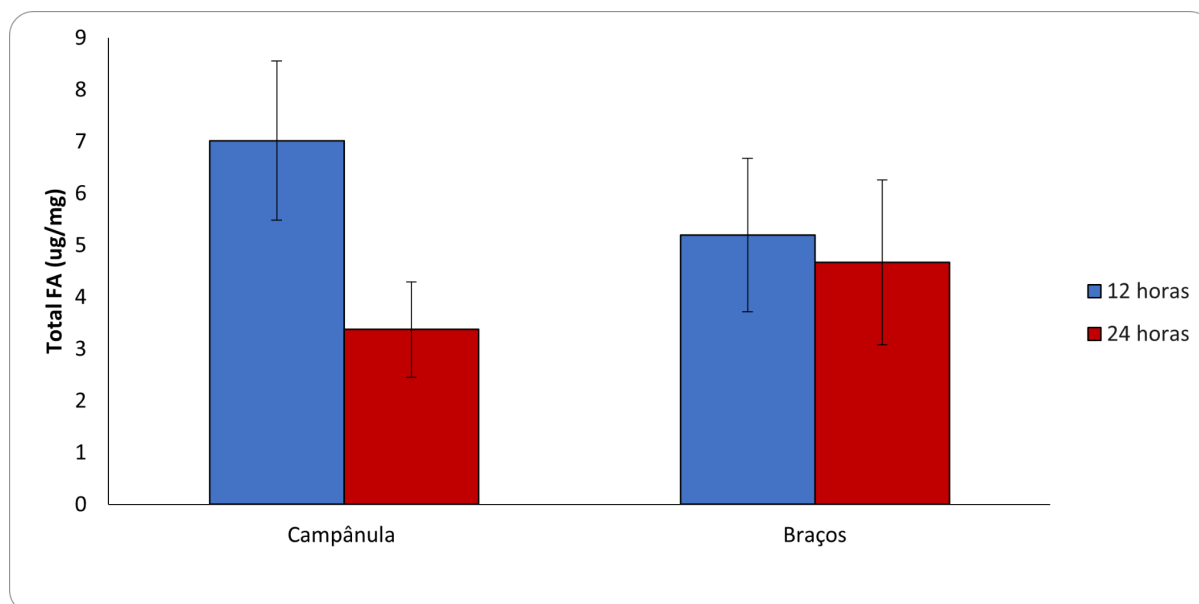


Figura 25. Conteúdo total de ácidos gordos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) nas frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* nos tratamentos de 12 h e 24 h de luz.

De forma a integrar os padrões observados no perfil de ácidos gordos e avaliar a influência conjunta dos fatores analisados, foram aplicadas análises multivariadas.

A composição de ácidos gordos das diferentes frações anatómicas de *Phyllorhiza punctata* foi analisada recorrendo a métodos multivariados, incluindo PERMANOVA, SIMPER e

ordenação por PCO, de forma a avaliar os efeitos do tipo de tecido (campânula vs braços orais) e do fotoperíodo (12 h vs 24 h de luz).

A análise PERMANOVA revelou diferenças significativas na composição de ácidos gordos em função do tipo de fração corporal e do regime de fotoperíodo, além de uma interação significativa entre estes fatores (iluminação: pseudo-F = 5,82; $p = 0,0086$; corpo: pseudo-F = 287,31; $p = 0,0001$; iluminação $\times$ corpo: pseudo-F = 5,71; $p = 0,0068$). A fração corporal constituiu o principal fator de variação, apresentando um efeito altamente significativo e explicando a maior proporção da variabilidade total (componente de variação = 866,94), enquanto o efeito da iluminação foi significativamente inferior (14,6). A interação entre iluminação e fração corporal apresentou também um contributo relevante (28,5), indicando que o efeito do fotoperíodo depende da fração anatómica considerada.

Estes resultados demonstram que as diferenças na composição de ácidos gordos são dominadas pelo tipo de tecido, refletindo perfis lipídicos distintos entre campânula e braços orais. No entanto, o regime de luz modula estes perfis de forma diferenciada entre frações, não sendo possível interpretar o efeito do fotoperíodo de forma isolada.

De forma a identificar os compostos responsáveis pelas diferenças detetadas, foi realizada uma análise SIMPER. Esta análise evidenciou que a dissimilaridade entre campânula e braços orais (42,10%) (Tabela II) foi substancialmente superior à observada entre os regimes de fotoperíodo (8,83%) (Tabela III), indicando que o tipo de tecido constitui o principal fator estruturante do perfil lipídico.

Tabela II – Análise SIMPER das diferenças no perfil de ácidos gordos entre a campânula e os braços orais de *Phyllorhiza punctata* (cut-off $\approx 70\%$).

Ácidos gordos	Campânula	Braços orais	Dissimilitude média	Contribuição (%)	Cumulativo (%)
C18:1 n-9	2,10	0,01	5,61	13,33	13,33
C20:4 n-6 (ARA)	2,04	0,00	5,61	13,32	26,64
C18:3 n-3 (ALA)	2,09	0,00	5,57	13,24	39,89
C18:2 n-6	1,20	0,00	3,11	7,38	47,26
C17:1 n-7	0,22	1,15	2,75	6,52	53,79
C20:5 n-3 (EPA)	1,00	0,00	2,70	6,42	60,21
C16:1 n-7	1,26	2,14	2,48	5,90	66,11
C18:1 n-7	1,28	0,46	2,29	5,43	71,54

Tabela III – Análise SIMPER das diferenças no perfil de ácidos gordos entre os regimes de fotoperíodo (12 h vs 24 h de luz).

Ácidos gordos	24 h	12 h	Dissimilitude média	Contribuição (%)	Cumulativo (%)
C15:0	1,15	1,21	1,22	13,85	13,85
C18:1 n-7	0,66	1,09	1,01	11,49	25,34
C17:1 n-7	0,62	0,85	0,77	8,76	34,10
C18:3 n-3 (ALA)	0,79	1,21	0,67	7,58	41,67
C18:1 n-9	0,80	1,22	0,66	7,49	49,17
C18:2 n-6	0,40	0,76	0,64	7,20	56,37
C16:1 n-7	1,70	1,77	0,63	7,17	63,54
C16:0	3,50	3,35	0,52	5,85	69,39
C18:4 n-3	0,23	0,46	0,49	5,54	74,93

As diferenças entre frações corporais foram principalmente explicadas por ácidos gordos polinsaturados (PUFA), nomeadamente C18:1 n-9, C20:4 n-6 (ARA) e C18:3 n-3 (ALA), que apresentaram elevada abundância na campânula e valores residuais ou ausência nos braços orais. Estes compostos contribuíram individualmente com mais de 13% para a dissimilaridade total, destacando-se como os principais responsáveis pela separação entre tecidos. Adicionalmente, outros ácidos gordos como C18:2 n-6 e C20:5 n-3 (EPA) reforçaram este padrão, evidenciando uma maior diversidade e complexidade lipídica na campânula.

Em contraste, os braços orais apresentaram um perfil mais homogêneo, dominado por ácidos gordos saturados e monoinsaturados, com menor contribuição de PUFA. Esta diferença estrutural entre tecidos é corroborada pela elevada similaridade interna observada nos braços orais (96,27%) (Tabela IV), comparativamente à campânula (88,60%) (Tabela V), indicando menor variabilidade na composição lipídica desta fração.

Tabela IV – Análise SIMPER da similaridade dos braços orais.

Ácidos gordos	Abundância média	Contribuição (%)	Cumulativo (%)
C18:0	3,86	28,86	28,86
C16:0	3,54	26,25	55,11
C16:1 n-7	2,14	15,66	70,77

Tabela V – Análise SIMPER da similaridade da campânula.

Ácidos gordos	Abundância média	Contribuição (%)	Cumulativo (%)
C16:0	3,32	16,56	16,56
C18:0	3,21	16,07	32,63
C18:1 n-9	2,10	9,41	42,04
C18:3 n-3 (ALA)	2,09	9,10	51,14
C20:4 n-6 (ARA)	2,04	8,91	60,06
C15:0	1,48	7,17	67,23
C16:1 n-7	1,26	5,43	72,66

Relativamente ao efeito do fotoperíodo, as diferenças observadas foram mais subtis e associadas a ácidos gordos de menor contribuição relativa. Os principais compostos responsáveis pela dissimilaridade entre 12 h e 24 h de luz incluíram C15:0, C18:1 n-7 e C17:1 n-7, com contribuições individuais entre 8% e 14%. Foram também observadas variações em alguns PUFA, como C18:3 n-3 (ALA) e C18:2 n-6, embora sem alterar o padrão global da composição lipídica.

A ordenação PCO (Figura 26) corroborou os resultados da PERMANOVA, evidenciando uma clara separação entre as frações campânula e braços orais ao longo do primeiro eixo principal. O eixo PCO1 explicou 94,6% da variação total, representando o principal gradiente de diferenciação na composição de ácidos gordos.

As amostras de campânula agruparam-se no lado positivo do eixo PCO1, enquanto os braços orais se concentraram no lado negativo, indicando diferenças marcadas entre tecidos. O segundo eixo (PCO2) explicou apenas 4,1% da variação total, evidenciando uma separação mais sutil associada ao regime de fotoperíodo, o que reforça o efeito secundário da iluminação na estrutura do perfil lipídico.

A projeção dos vetores dos ácidos gordos indicou que a campânula se encontra associada a ácidos gordos polinsaturados (PUFA), incluindo C18:3 n-3 (ALA), C20:5 n-3 (EPA), C22:6 n-3 (DHA) e C20:4 n-6 (ARA), refletindo um perfil mais funcional e metabolicamente ativo. Em contraste, os braços orais foram caracterizados por maiores proporções de ácidos gordos saturados e monoinsaturados, como C16:0 e C18:0, evidenciando um perfil mais estrutural.

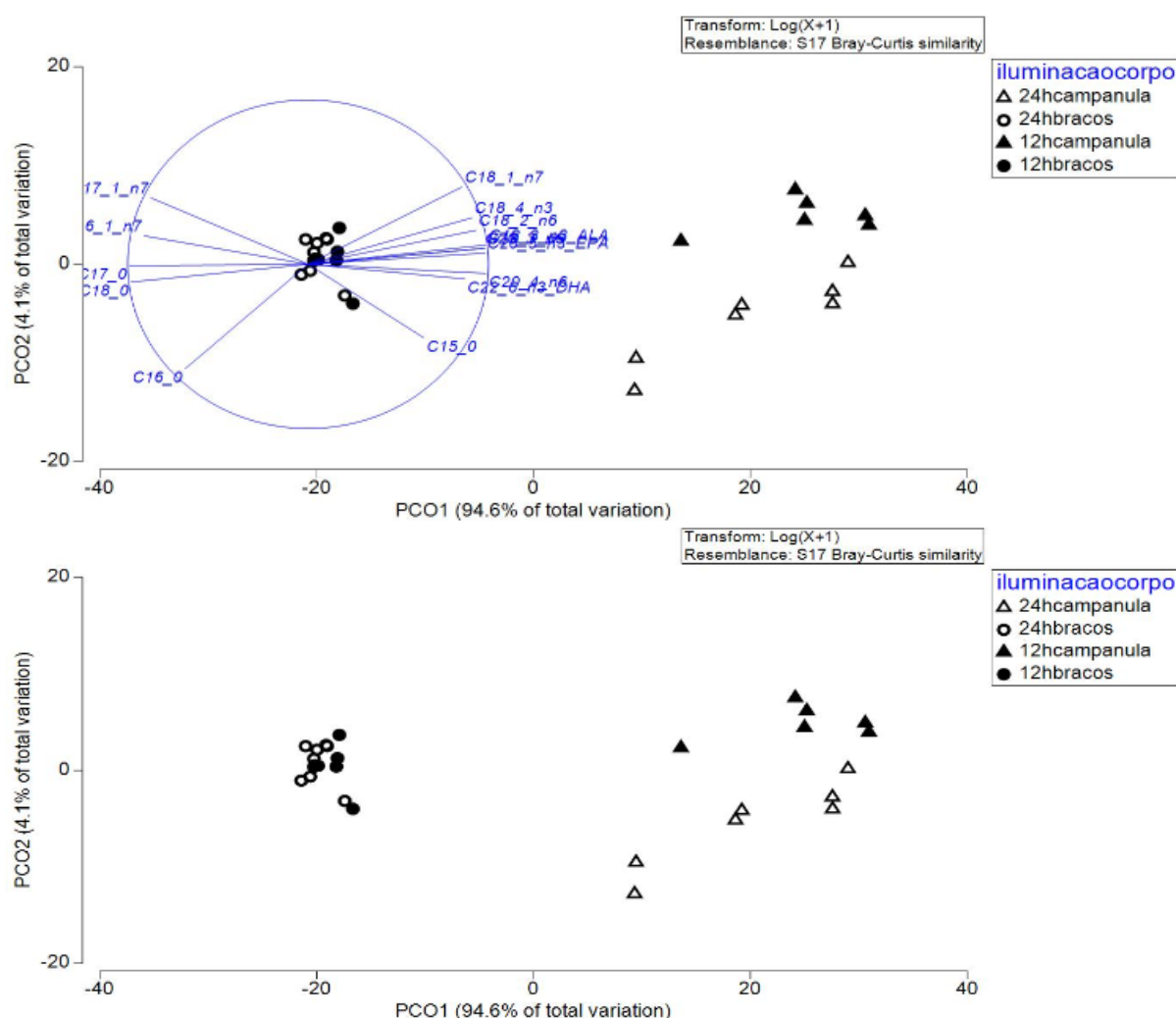


Figura 26. Ordenação por análise de coordenadas principais (PCO) baseada em distâncias de Bray-Curtis obtidas a partir de dados de composição de ácidos gordos transformados por $\log(x+1)$. O primeiro eixo (PCO1) explica 94.6% da variação total e separa claramente as frações corporais (campânula e braços), enquanto o segundo eixo (PCO2), responsável por 4.1% da variação, evidencia diferenças associadas ao regime de iluminação (24 h e 12 h). Os vetores representam os ácidos gordos com maior contribuição para a ordenação, indicando a associação da campânula a ácidos gordos polinsaturados e dos braços a ácidos gordos saturados e monoinsaturados.

Em conjunto, os resultados das análises multivariadas indicam que o tipo de fração corporal exerce um efeito dominante na composição de ácidos gordos, enquanto o fotoperíodo atua como um fator secundário, induzindo alterações mais discretas no perfil lipídico das medusas.

4. Discussão

Dados biométricos

Diâmetro

O diâmetro da campânula não apresentou diferenças significativas entre os regimes de luz, indicando ausência de efeito do fotoperíodo no crescimento estrutural de *Phyllorhiza punctata*, este resultado sugere que o crescimento estrutural poderá ser menos sensível ao regime de luz do que outros parâmetros fisiológicos, sendo possivelmente mais dependente da disponibilidade alimentar ou de fatores energéticos. Em cifomedusas simbióticas, a relação entre crescimento corporal e disponibilidade de luz está frequentemente associada à presença de zooxantelas, que realizam fotossíntese e transferem compostos orgânicos para o hospedeiro (Davy et al., 2012; Yellowlees et al., 2008; Medina et al., 2021).

A energia derivada da fotossíntese contribui significativamente para o metabolismo do hospedeiro, permitindo que uma fração considerável das necessidades energéticas seja suprida por compostos como glicose e glicerol (Muscatine & Porter, 1977). Esta transferência de carbono fotossintético tem sido observada em espécies como *Cassiopea xamachana* e *Mastigias papua*, nas quais a atividade fotossintética dos simbiossitos contribui diretamente para o crescimento e desenvolvimento (Freeman et al., 2016; Ohdera et al., 2018).

No entanto, os resultados obtidos nesta investigação sugerem que o aumento da disponibilidade luminosa não se traduziu num aumento do crescimento estrutural, medido através do diâmetro da campânula. Este padrão pode indicar que a energia adicional proveniente da fotossíntese foi direcionada para outros processos fisiológicos, como a acumulação de biomassa ou alterações metabólicas, em vez de promover aumento do tamanho corporal. Este redirecionamento energético pode refletir uma estratégia fisiológica na qual o investimento em reservas energéticas ou manutenção celular é prioritário diante do crescimento estrutural, especialmente em condições ambientais que não limitam diretamente a sobrevivência do organismo.

Entretanto, a relação entre intensidade luminosa e crescimento em cnidários simbióticos não é linear, uma vez que níveis elevados de luz podem induzir stress fisiológico associado à produção de espécies reativas de oxigénio durante a fotossíntese (Lesser, 2006). Este fenómeno pode limitar a eficiência metabólica da simbiose quando a irradiância excede os níveis fisiológicos ótimos, afetando o crescimento estrutural, reforçando o padrão de que existe um ótimo de irradiância para maximizar a eficiência da simbiose, sendo que tanto níveis reduzidos como excessivos de luz podem comprometer o balanço energético do sistema hospedeiro-simbionte.

Massa fresca

Em contraste com o diâmetro, a massa fresca das medusas apresentou diferenças entre os regimes luminosos, com valores médios superiores sob iluminação contínua, principalmente na fração da campânula, demonstrando que os indivíduos não se tornaram maiores, mas tornaram-se mais pesados, sugerindo um aumento da condição corporal, este aumento pode não refletir apenas crescimento em termos de biomassa orgânica, mas também alterações na retenção de água nos tecidos, uma vez que pequenas variações na composição da mesogleia podem resultar em alterações significativas na massa fresca.

O aumento da massa fresca sob luz contínua poderá indicar uma maior acumulação de reservas ou alterações no conteúdo de água dos tecidos, possivelmente associadas a um aumento da atividade metabólica mediada pelas zooxantelas, este efeito está diretamente relacionado com a intensificação da fotossíntese sob maior disponibilidade luminosa, que aumenta a produção de compostos orgânicos, como glicose e lípidos, posteriormente

utilizados pelo hospedeiro em processos anabólicos (Falkowski et al., 1984; Muscatine et al., 1981). Nas medusas, a massa fresca é influenciada pela água e devido a estrutura da mesogleia, que constitui a maior parte dessa biomassa corporal, tal fração é composta principalmente por água, colagénio e glicoproteínas, podendo representar mais de 95% da massa total destes organismos (Lucas, 2001).

No regime de 24 horas de luz este aumento pode refletir uma maior acumulação de biomassa associada ao aumento da atividade metabólica das zooxantelas. Em organismos simbióticos, os produtos da fotossíntese podem ser utilizados pelo hospedeiro para processos biossintéticos, incluindo a produção de componentes estruturais da matriz extracelular, como observado também por Rådecker et al., 2021. Sendo assim, a maior disponibilidade de energia metabólica derivada da fotossíntese possibilita o crescimento tecidual e a expansão da mesogleia, para além disso, a expansão da mesogleia pode representar uma estratégia de armazenamento energético de baixo custo metabólico, permitindo ao organismo acumular reservas sem um aumento proporcional na atividade celular.

De acordo com Freeman et al., 2016 em estudo com *Cassiopea*, a produtividade fotossintética dos simbioses pode fornecer uma parte substancial da energia necessária para a manutenção metabólica e crescimento do organismo. Assim, o aumento da massa fresca observado no presente estudo pode refletir um maior aporte energético proveniente da simbiose fotossintética sob condições de maior disponibilidade luminosa.

Massa seca

Com a massa seca representando a fração orgânica e mineral remanescente após remoção da água, incluindo proteínas estruturais, colagénio, lípidos e outros componentes celulares. Os resultados obtidos indicaram um aumento da massa seca nas frações estruturais sob o regime de 24 horas de luz, sugerindo que a disponibilidade luminosa pode influenciar a síntese de biomoléculas estruturais em *Phyllorhiza punctata*, este aumento sugere uma maior incorporação de carbono orgânico nos tecidos, refletindo uma intensificação dos processos biossintéticos dependentes da energia fornecida pela simbiose fotossintética. Uma vez que, os compostos orgânicos produzidos pelas zooxantelas podem ser utilizados pelo hospedeiro na síntese de proteínas, lípidos e outros constituintes celulares (Davy et al., 2012).

A transferência de metabolitos fotossintéticos entre simbiote e hospedeiro constitui um dos mecanismos fundamentais que sustentam a produtividade metabólica da simbiose. Segundo Rådecker et al., 2021 a assimilação de carbono derivado da fotossíntese pode estimular a síntese de biomoléculas no hospedeiro e influenciar diretamente o crescimento e a composição bioquímica dos tecidos.

Desta forma, o aumento da massa seca observado sob iluminação contínua pode refletir uma maior incorporação de biomassa estrutural associada ao aumento da disponibilidade de carbono fixado pelas zooxantelas. Entretanto, a variação constatada entre as frações anatómicas sugere que diferentes tecidos podem responder de forma distinta às condições ambientais, refletindo diferenças funcionais na organização estrutural e metabólica do organismo. Esta heterogeneidade funcional é consistente com a organização nas quais, diferentes regiões anatómicas apresentam graus distintos de atividade metabólica e dependência da simbiose (Muscatine et al., 1981).

Composição bioquímica

Humidade

Os valores elevados de humidade correspondentes às diferentes frações anatómicas são consistentes com a composição típica das medusas, cuja biomassa é composta predominantemente por água (Jarms & Morandini, 2019). Podendo representar mais de 95–97% da massa total do organismo, sendo a fração restante composta principalmente por proteínas estruturais, minerais e lípidos (Hsieh et al., 2001; Lucas, 2001).

A presença da mesogleia, matriz extracelular gelatinosa que constitui a maior parte do corpo desses organismos, está associada à hidratação elevada, por ser composta essencialmente de água, fibras de colagénio e proteoglicanos (Parisi et al., 2021). Esta estrutura possibilita que as medusas mantenham grandes dimensões corporais com um investimento energético relativamente reduzido em biomassa celular, desempenhando também papel importante na ecologia destes organismos. Visto que, a baixa densidade corporal resultante da elevada proporção de água facilita a flutuabilidade e permite que as medusas se mantenham na coluna de água com baixo custo energético (Arai, 1997; Lucas, 2001).

Nesta investigação, o muco apresentou valores de humidade ligeiramente superiores às restantes frações anatómicas. Este resultado é consistente com a natureza altamente hidratada do muco, por ser composto principalmente de glicoproteínas e mucopolissacarídeos capazes de reter grandes quantidades de água. Nas medusas, o muco desempenha diversas funções ecológicas e fisiológicas, incluindo proteção contra predadores, captura de partículas e interação com o ambiente circundante (Pitt & Purcell, 2009). Este elevado teor de água também implica que pequenas alterações na fração orgânica podem ter efeitos desproporcionais na composição bioquímica relativa, devendo ser consideradas na interpretação dos resultados.

Proteína

O teor de proteína apresentou diferenças entre as frações anatómicas, com valores mais elevados nos braços orais em comparação com a campânula. Esta diferença está de acordo com a organização estrutural, uma vez que os braços orais apresentam maior densidade celular e estão diretamente envolvidos em funções, tais como, captura de alimento, digestão e transporte de partículas para a cavidade gastrovascular (Lucas & Pitt, 2010). Como consequência, estes tecidos apresentam maior quantidade de proteínas estruturais e enzimáticas associadas à atividade metabólica destas regiões, este padrão reforça a especialização funcional dos tecidos, sendo os braços orais regiões metabolicamente mais ativas e diretamente envolvidas na aquisição e processamento de nutrientes.

Nas medusas, a composição proteica é dominada principalmente por proteínas estruturais da matriz extracelular, principalmente pelo colagénio e outras glicoproteínas associadas à mesogleia. Estudos sobre composição bioquímica de diferentes espécies de medusas indicam que as proteínas representam uma fração importante da matéria orgânica destes organismos, podendo atingir valores elevados quando expressas em base de massa seca (Leone et al., 2015). Em algumas espécies, como *Rhizostoma pulmo* e *Cotylorhiza tuberculata*, foi observado que uma proporção significativa desta fração proteica corresponde a colagénio, podendo representar até cerca de metade do conteúdo proteico total (Leone et al., 2015; Khong et al., 2016).

A distribuição das proteínas entre diferentes regiões anatómicas também foi descrita na espécie *Aurelia aurita*, nas quais os tecidos associados aos braços orais apresentam frequentemente maior teor proteico devido à presença de músculos, cnidócitos e estruturas digestivas especializadas (Lucas, 2001). Deste modo, os resultados observados neste estudo refletem diferenças funcionais entre os tecidos da medusa *Phyllorhiza punctata*, com mais proteínas estruturais e funcionais nas regiões diretamente envolvidas na alimentação.

Colagénio

O colagénio constitui um dos principais componentes estruturais da mesogleia e desempenha um papel fundamental na manutenção da integridade mecânica e elasticidade do corpo das medusas (Bergheim & Özbek, 2019). As fibras de colagénio formam uma rede tridimensional que permite um suporte estrutural aos tecidos gelatinosos e contribui para a resistência mecânica do organismo (Lucas, 2001; Parisi et al., 2021).

Os valores de colagénio obtidos nesta investigação foram mais elevados nos braços orais, refletindo possivelmente diferenças na organização estrutural entre as diferentes regiões anatómicas. Os braços orais são estruturas que participam ativamente na captura e manipulação de presas e podem requerer maior suporte estrutural para suportar forças mecânicas associadas a estas funções (Arai, 1997). Para além da função mecânica, a organização do colagénio pode também influenciar a difusão de nutrientes e metabolitos através da mesogleia, desempenhando um papel indireto na fisiologia do organismo.

A presença de colagénio nas medusas, além da sua importância estrutural, tem também despertado interesse crescente devido ao seu potencial biotecnológico. O colagénio extraído de cifomedusas apresenta propriedades estruturais semelhantes às de outros colagénios marinhos e tem sido investigado para aplicações biomédicas, farmacêuticas e cosméticas (Leone et al., 2015; Hoyer et al., 2014). A distribuição de colagénio observada nesta investigação reflete a organização estrutural do organismo e o potencial valor biotecnológico destes compostos.

Cinza

O teor de cinza representou a fração mineral da amostra e corresponde principalmente à presença de sais dissolvidos e outros compostos inorgânicos. Em organismos gelatinosos marinhos, o conteúdo mineral pode ser relativamente elevado devido à elevada permeabilidade dos tecidos e à presença de água do mar retida na matriz da mesogleia (Hsieh et al., 2001).

No presente estudo, o muco apresentou os valores mais elevados de cinzas em comparação com as restantes frações anatómicas. Este resultado pode estar relacionado com a capacidade do muco em adsorver e acumular partículas e sais dissolvidos presentes na água do mar.

O muco produzido por medusas desempenha diversas funções ecológicas, incluindo proteção contra predadores, captura de partículas alimentares e interação com o ambiente circundante (Pitt & Purcell, 2009). A sua composição química pode incluir além de mucopolissacarídeos, proteínas e diversos compostos minerais provenientes do meio. Assim, os valores elevados de cinzas observados nesta fração refletem a natureza altamente interativa do muco com o ambiente aquático, este padrão sugere que o muco pode atuar como interface química entre o organismo e o meio, acumulando não só partículas, mas também compostos dissolvidos relevantes para a fisiologia da medusa.

Perfil de ácidos gordos

Os ácidos gordos saturados constituíram a fração dominante do perfil lipídico nas frações analisadas, particularmente nos braços orais, evidenciando diferenças claras na organização metabólica e estrutural entre as regiões anatómicas da medusa. A predominância de SFA em tecidos estruturais tem sido amplamente descrita em organismos marinhos gelatinosos e está associada ao papel destes compostos na estabilidade das membranas celulares, visto que é particularmente relevante em condições de stress ambiental, nas quais a integridade das membranas celulares é essencial para a manutenção da homeostase celular.

Devido à ausência de ligações duplas nas suas cadeias hidrocarbonadas, os SFA apresentam maior rigidez molecular, conferindo maior estabilidade estrutural e menor suscetibilidade à oxidação quando comparados com ácidos gordos insaturados (Parrish, 2009). Tal padrão é consistente com a análise SIMPER, que identificou os ácidos gordos saturados e

monoinsaturados como principais contribuintes para a similaridade interna dos braços orais, enquanto os ácidos gordos polinsaturados foram determinantes na diferenciação da campânula.

Esta elevada proporção de SFA pode refletir uma maior contribuição de lípidos estruturais associados às membranas celulares, particularmente em tecidos com elevada densidade celular. Os braços orais, sendo estruturas diretamente envolvidas na captura, manipulação e digestão de alimento, apresentam maior complexidade funcional e maior quantidade de células especializadas, o que implica em uma maior abundância de membranas celulares e, consequentemente, de fosfolípidos ricos em ácidos gordos saturados. Este padrão tem sido descrito em outras medusas, como *Cotylorhiza tuberculata* e *Rhizostoma pulmo*, nas quais os tecidos associados aos braços orais apresentam perfis lipídicos dominados por SFA (Leone et al., 2015).

Estudos em medusas como *Cassiopea xamachana* e *Mastigias papua* demonstraram que tecidos associados a funções estruturais ou musculares apresentam maior proporção de ácidos gordos saturados, refletindo a necessidade de estabilidade mecânica e integridade estrutural das membranas celulares (Freeman et al., 2016; Ohdera et al., 2018). Estes resultados reforçam que a distribuição dos SFA não é aleatória, mas sim fortemente dependente da função dos tecidos e da sua organização fisiológica.

Para além do seu papel estrutural, a elevada proporção de SFA pode também estar associada a mecanismos de proteção contra o stress oxidativo. Em organismos simbióticos expostos à luz, a atividade fotossintética das zooxantelas pode levar à produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), especialmente quando a irradiância excede os níveis ótimos para o funcionamento do sistema fotossintético (Lesser, 2006). Sendo assim, os ácidos gordos saturados, por serem menos suscetíveis à peroxidação lipídica, podem contribuir para a manutenção da integridade das membranas celulares em condições de stress.

O aumento relativo de SFA pode ser interpretado não apenas como uma característica estrutural dos tecidos, mas também como uma possível resposta adaptativa a condições ambientais que promovem stress oxidativo, podendo ser interpretado como um mecanismo de remodelação lipídica, no qual a composição das membranas é ajustada para minimizar danos oxidativos e preservar a funcionalidade celular. Este tipo de ajustamento tem sido descrito em diversos organismos marinhos, nos quais alterações na composição lipídica das membranas

refletem estratégias fisiológicas para aumentar a resistência celular a condições adversas (Lesser, 2006; Hulbert, 2005).

Em medusas simbióticas, a composição lipídica do hospedeiro pode ser parcialmente modulada pela atividade metabólica das zooxantelas. Embora estes simbiontes sejam conhecidos por produzir predominantemente ácidos gordos insaturados, o hospedeiro pode metabolizar, modificar ou redistribuir estes compostos de forma diferenciada entre os tecidos, contribuindo para variações regionais na composição lipídica (Papina et al., 2003; Imbs & Yakovleva, 2012). Desta forma, a elevada proporção de SFA observada nos braços orais pode resultar não apenas da função estrutural destes tecidos, mas também da interação metabólica entre hospedeiro e simbiote. Refletindo uma combinação de fatores estruturais, funcionais e fisiológicos, incluindo a organização dos tecidos, a necessidade de estabilidade das membranas celulares e possíveis mecanismos de adaptação ao stress oxidativo associado à simbiose fotossintética.

Em contraponto com o predomínio de ácidos gordos saturados nos braços orais, os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) apresentaram proporções relativamente mais elevadas na campânula, evidenciando diferenças metabólicas e funcionais entre as regiões anatómicas da medusa. Esta distribuição sugere que, enquanto os braços orais refletem predominantemente funções estruturais e mecânicas, a campânula poderá estar mais associada a processos metabólicos dinâmicos, influenciados pela presença de simbiontes fotossintéticos.

Os MUFA possuem uma única ligação dupla na cadeia carbónica, o que lhes confere maior flexibilidade estrutural em comparação com os ácidos gordos saturados, contribuindo para a regulação da fluidez das membranas celulares (Parrish, 2009). Esta propriedade é fundamental para a manutenção da funcionalidade celular, permitindo que as membranas se adaptem a variações ambientais, sendo assim, a maior proporção de MUFA na campânula pode refletir uma necessidade de aumento na regulação da fluidez membranar em tecidos mais expostos à radiação luminosa e, conseqüentemente, sujeitos a maior variabilidade metabólica, esta regulação é essencial para o funcionamento de proteínas de membrana, incluindo transportadores e enzimas, cuja atividade depende diretamente das propriedades físicas da bicamada lipídica. Neste contexto, os MUFA desempenham um papel intermédio entre os SFA e os PUFA, podendo participar tanto em funções estruturais quanto em processos

metabólicos associados ao armazenamento e mobilização de energia (Parrish, 2009; Los & Murata, 2004).

A maior proporção de MUFA observada na campânula pode estar associada a uma maior densidade de zooxantelas e a uma maior atividade fotossintética nesta região, resultando numa maior disponibilidade de compostos orgânicos derivados da fotossíntese. Estes compostos podem ser posteriormente convertidos ou integrados no metabolismo lipídico do hospedeiro, contribuindo para a composição observada (Freeman et al., 2016; Sikorskaya et al., 2022). Esta variação na proporção de MUFA entre frações anatómicas pode também refletir diferenças na dinâmica metabólica entre tecidos. Enquanto os braços orais apresentam maior especialização estrutural e funcional, a campânula pode atuar como uma região metabolicamente mais ativa, integrando tanto processos autotróficos associados à simbiose quanto processos heterotróficos.

Assim, os resultados obtidos sugerem que os MUFA desempenham um papel relevante na adaptação metabólica de *Phyllorhiza punctata*, refletindo não apenas a organização funcional dos tecidos, mas também a influência da simbiose fotossintética na modulação da composição lipídica. Esta interação entre estrutura, metabolismo e simbiose reforça a complexidade do sistema hospedeiro-simbionte e a sua importância na regulação do metabolismo lipídico em medusas simbióticas (Papina et al., 2003; Freeman et al., 2016).

Em continuidade com o padrão observado para os ácidos gordos monoinsaturados, os ácidos gordos polinsaturados (PUFA) apresentaram maior abundância na campânula, reforçando a ideia de que esta região anatómica se encontra mais diretamente associada à atividade metabólica dos simbiontes fotossintéticos. Estes compostos desempenham funções fundamentais na fisiologia celular, particularmente na manutenção da fluidez das membranas celulares, na regulação de processos metabólicos e na organização estrutural das bicamadas lipídicas (Parrish, 2009; Botana et al., 2025).

Devido à presença de duas ou mais ligações duplas na sua estrutura, os PUFA apresentam elevada flexibilidade molecular, o que os torna essenciais para a funcionalidade das membranas celulares, mas simultaneamente mais suscetíveis à oxidação, este processo ocorre através de reações em cadeia de peroxidação lipídica, nas quais os radicais livres atacam as ligações duplas dos PUFA, levando à formação de hidroperóxidos lipídicos e à degradação das membranas celulares (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Estes ácidos gordos podem ter múltiplas origens, incluindo a dieta heterotrófica, a síntese pelo hospedeiro ou a produção pelas zooxantelas associadas. Em cnidários simbióticos, diversos estudos indicam que os dinoflagelados possuem vias metabólicas capazes de sintetizar uma ampla gama de PUFA, que podem posteriormente ser transferidos para os tecidos do hospedeiro (Papina et al., 2003; Imbs & Yakovleva, 2012).

A maior abundância de PUFA na campânula observada neste estudo está, portanto, fortemente associada à presença de zooxantelas e à sua atividade fotossintética sendo reforçado pela análise SIMPER, que identificou compostos como ALA (C18:3 n-3), ARA (C20:4 n-6) e EPA (C20:5 n-3) como os principais responsáveis pela dissimilaridade entre campânula e braços orais. Este padrão tem sido descrito em outras medusas simbióticas, como *Cotylorhiza tuberculata* e *Cassiopea*, nas quais os tecidos mais expostos à radiação luminosa apresentam maior proporção de ácidos gordos insaturados, como já citado, refletindo a contribuição metabólica dos simbiontes (Leone et al., 2015; Freeman et al., 2016).

A influência do fotoperíodo revelou-se particularmente evidente na modulação destes compostos. A predominância de PUFA na campânula foi mais expressiva no regime de 12 horas de luz, enquanto sob 24 horas de iluminação contínua se observou uma redução significativa destes ácidos gordos. No entanto, este efeito deve ser interpretado em interação com a fração corporal, uma vez que a resposta ao fotoperíodo não foi uniforme entre tecidos, conforme evidenciado pela PERMANOVA. Estes resultados sugerem que um regime de luz moderado favorece a síntese e manutenção de PUFA, enquanto a exposição contínua à luz pode induzir alterações no metabolismo lipídico da medusa e dos seus simbiontes, esta redução de ácidos gordos polinsaturados pode estar associada à sua maior suscetibilidade à oxidação, uma vez que estes compostos são particularmente vulneráveis à ação de espécies reativas de oxigênio, que podem aumentar sob condições de iluminação contínua.

Este efeito pode estar associado a fenômenos de fotoinibição, que ocorrem quando a energia luminosa absorvida excede a capacidade de processamento do sistema fotossintético das zooxantelas, está frequentemente associada à sobrecarga do fotossistema II, resultando em fuga de elétrons e aumento da formação de espécies reativas de oxigênio. Nestas condições, verifica-se um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em stress oxidativo e comprometimento da eficiência fotossintética (Lesser, 2006; Oakley & Davy, 2018).

Uma vez que os PUFA são particularmente suscetíveis à peroxidação lipídica devido à presença de múltiplas ligações duplas, estes compostos tendem a ser preferencialmente degradados em condições de stress oxidativo. Como consequência, pode ocorrer uma diminuição relativa da sua proporção nos tecidos, acompanhada por uma reorganização da composição lipídica das membranas celulares, favorecendo ácidos gordos mais estáveis, como os saturados e monoinsaturados (Parrish, 2009; Imbs & Yakovleva, 2012).

Assim, a redução de PUFA observada no regime de luz contínua pode refletir um ajustamento fisiológico tanto do hospedeiro como das zooxantelas, pode envolver não só a degradação seletiva de PUFA, mas também a sua substituição por ácidos gordos mais estáveis, alterando a composição das membranas de forma adaptativa, no qual ocorre uma modificação da composição lipídica das membranas celulares com o objetivo de aumentar a resistência ao stress oxidativo, este tipo de resposta tem sido descrito em outros organismos fotossintéticos e simbióticos (Imbs & Yakovleva, 2012; Oakley & Davy, 2018).

Enquanto no regime de 12 horas de luz seguido de 12 horas de escuro, parece proporcionar condições mais equilibradas para a atividade fotossintética, permitindo não só uma produção eficiente de compostos orgânicos, mas também a manutenção de ácidos gordos polinsaturados nos tecidos da medusa. Este equilíbrio entre produção e estabilidade metabólica poderá ser fundamental para a manutenção de um perfil lipídico mais diversificado e funcional (Ohdera et al., 2018). Em conjunto, estes resultados indicam que os PUFA constituem um componente altamente sensível às condições ambientais, particularmente ao fotoperíodo, refletindo a interação dinâmica entre metabolismo lipídico, atividade fotossintética e mecanismos de resposta ao stress em *Phyllorhiza punctata*.

Nos ácidos gordos das séries n-3 e n-6 apresentaram padrões de distribuição semelhantes, sendo detetados exclusivamente na campânula. Esta distribuição reforça a associação destes compostos com os tecidos onde ocorre maior atividade fotossintética, evidenciando a influência direta das zooxantelas na composição lipídica do hospedeiro (Ohdera et al., 2018; Rådecker et al., 2021).

Os ácidos gordos da série n-3 desempenham um papel fundamental na manutenção da fluidez das membranas celulares e na regulação de diversos processos metabólicos, sendo particularmente relevantes em organismos marinhos devido à sua elevada insaturação, tornando-os particularmente vulneráveis à peroxidação lipídica, o que pode explicar a sua

redução mais acentuada sob condições de stress oxidativo (Davy et al., 2012; Svetashev, 2025). Neste estudo, os valores de ácidos gordos n-3 foram superiores no regime de 12 horas de luz, enquanto sob iluminação contínua se observaram valores mais reduzidos. Este padrão é consistente com a resposta observada para os PUFA, sugerindo que condições de fotoperíodo equilibrado favorecem a produção e manutenção destes compostos nos tecidos da medusa.

De forma semelhante, os ácidos gordos da série n-6 apresentaram distribuição restrita à campânula e valores mais elevados no regime de 12 horas de luz. Estes compostos, para além do seu papel estrutural nas membranas celulares, participam em processos de sinalização celular e na síntese de moléculas bioativas envolvidas em respostas fisiológicas (Calder, 2015). A sua presença nos tecidos mais expostos à luz reforça a sua ligação à atividade metabólica das zooxantelas.

A redução simultânea de n-3 e n-6 sob iluminação contínua deve ser interpretada no contexto da interação entre fotoperíodo e fração corporal, sugerindo que o efeito da luz na composição lipídica depende do tecido analisado, atuando de forma abrangente sobre os ácidos gordos polinsaturados, afetando não apenas a sua abundância, mas também o equilíbrio entre diferentes classes (Freeman et al., 2016; Oakley & Davy, 2018).

Desta maneira, a razão n-3/n-6 constitui um indicador relevante do equilíbrio lipídico e do estado metabólico dos tecidos. No presente estudo, esta razão apresentou valores superiores no regime de 12 horas de luz e diminuiu sob iluminação contínua, refletindo uma alteração no equilíbrio entre estas duas classes de ácidos gordos. A diminuição da razão n-3/n-6 sob condições de luz contínua pode indicar uma redução relativa dos ácidos gordos mais insaturados, particularmente os da série n-3, que apresentam maior número de ligações duplas e, consequentemente, maior suscetibilidade à oxidação. Este resultado sugere que a exposição prolongada à luz pode favorecer a degradação seletiva destes compostos ou limitar a sua síntese e incorporação nos tecidos. Alterações nesta razão têm sido amplamente utilizadas como indicadores de stress fisiológico e alterações metabólicas em organismos aquáticos (Parrish, 2009).

Em conjunto, os resultados indicam que o tipo de fração corporal constitui o principal fator estruturante da composição de ácidos gordos, enquanto o fotoperíodo atua como um fator modulador secundário. Este efeito do fotoperíodo depende da fração anatómica considerada,

refletindo a interação significativa entre fatores evidenciada na PERMANOVA, que sugerem uma relação dinâmica entre atividade fotossintética, disponibilidade energética e mecanismos de adaptação ao stress oxidativo em *Phyllorhiza punctata*.

Em sequência com as alterações observadas na composição relativa dos ácidos gordos, o teor absoluto de ácidos gordos forneceu uma perspectiva complementar sobre a dinâmica do metabolismo lipídico em *Phyllorhiza punctata*. De forma geral, os valores mais elevados foram registados na campânula, particularmente no regime de 12 horas de luz, enquanto sob luz contínua se verificou uma redução do conteúdo lipídico total, podendo refletir simultaneamente uma menor síntese de lípidos e um aumento da sua degradação, evidenciando um desequilíbrio entre processos anabólicos e catabólicos.

Em organismos gelatinosos como as medusas, os lípidos representam uma fração relativamente reduzida da biomassa total, uma vez que estes organismos são constituídos maioritariamente por água e apresentam baixa densidade celular (Lucas & Pitt, 2010). No entanto, apesar da sua baixa proporção, os lípidos desempenham funções essenciais, nomeadamente na estrutura das membranas celulares, no armazenamento energético e na regulação de processos metabólicos.

A maior concentração de ácidos gordos na campânula pode estar diretamente relacionada com a presença de zooxantelas nesta região anatómica. Em cnidários simbióticos, uma fração significativa dos lípidos presentes nos tecidos do hospedeiro deriva do carbono fixado durante a fotossíntese pelos simbiontes, sendo posteriormente transferido e incorporado no metabolismo do hospedeiro (Muscatine & Porter, 1977; Davy et al., 2012). Assim, tecidos com maior densidade de simbiontes tendem a apresentar maior conteúdo lipídico, refletindo a contribuição metabólica da simbiose.

O aumento do teor absoluto de ácidos gordos no regime de 12 horas de luz sugere que condições de fotoperíodo equilibrado favorecem a eficiência fotossintética das zooxantelas e a consequente produção e transferência de compostos orgânicos para o hospedeiro. Este padrão está de acordo com estudos que demonstram que regimes de luz moderados promovem uma maior produtividade metabólica em sistemas simbióticos, permitindo uma utilização mais eficiente do carbono fixado (Yellowlees et al., 2008).

Por outro lado, a redução do teor lipídico observada sob iluminação contínua pode indicar uma alteração no metabolismo energético associada a fenômenos de stress fotossintético. A exposição prolongada à luz pode comprometer a eficiência do sistema fotossintético das zooxantelas, levando a uma diminuição na produção de compostos orgânicos e, consequentemente, a uma menor disponibilidade de substratos para a síntese de lipídios no hospedeiro.

Adicionalmente, condições de stress oxidativo podem promover a degradação de lipídios celulares através de processos de peroxidação lipídica, contribuindo para a diminuição do conteúdo total de ácidos gordos nos tecidos além de gerar compostos secundários potencialmente tóxicos, que podem comprometer a integridade celular (Sies, 2017). Este processo afeta particularmente os ácidos gordos insaturados, podendo reforçar o padrão observado de redução de PUFA sob iluminação contínua.

Assim, a variação no teor absoluto de ácidos gordos observada neste estudo parece refletir uma interação entre produção fotossintética, transferência de carbono e mecanismos de resposta ao stress. Enquanto o regime de 12 horas de luz favorece a acumulação de lipídios derivados da atividade fotossintética, a exposição contínua à luz parece induzir alterações metabólicas que comprometem tanto a quantidade como a qualidade dos lipídios presentes nos tecidos, evidenciando que o fotoperíodo atua como um fator determinante na regulação do metabolismo lipídico em *Phyllorhiza punctata*, influenciando não apenas a composição relativa dos ácidos gordos, mas também o conteúdo lipídico total, destacando a importância do equilíbrio do fotoperíodo para a manutenção da homeostase metabólica em medusas simbióticas.

O funcionamento biológico da medusa *Phyllorhiza punctata*, nomeadamente o papel das zooxantelas, a forma como a luz pode influenciar o metabolismo e a composição bioquímica fica evidente com o aumento da massa fresca observado sob condições de luz contínua sugere uma melhoria da condição corporal das medusas, ainda que sem alterações no crescimento estrutural. Este padrão pode estar associado à atividade das zooxantelas simbióticas, cuja fotossíntese é diretamente dependente da disponibilidade de luz, contribuindo para a produção de compostos orgânicos posteriormente transferidos para o hospedeiro. Estudos clássicos em cnidários demonstram que a fixação de carbono pelas zooxantelas pode representar uma fonte

significativa de energia para o metabolismo do organismo, influenciando a acumulação de biomassa (Falkowski et al., 1984; Muscatine et al., 1981).

No entanto, a exposição contínua à luz poderá também induzir efeitos adversos ao nível bioquímico, nomeadamente através do aumento da produção de espécies reativas de oxigénio. Neste contexto, a redução observada nos ácidos gordos polinsaturados pode refletir a sua maior suscetibilidade à oxidação, uma vez que estes compostos desempenham funções estruturais e metabólicas essenciais, mas são particularmente vulneráveis ao stress oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2015; Arts et al., 2001). Adicionalmente, a composição lipídica em organismos marinhos é reconhecida como altamente sensível a alterações ambientais, incluindo o regime de luz, podendo refletir ajustamentos metabólicos em resposta a condições de stress (Parrish, 2009). Estes resultados sugerem, assim, um compromisso entre o aumento da biomassa promovido pela luz contínua e a manutenção da qualidade bioquímica dos tecidos, além de reforçar a importância do equilíbrio entre disponibilidade energética e estabilidade bioquímica, evidenciando que condições ambientais aparentemente favoráveis, como a luz contínua, podem ter efeitos paradoxais ao nível fisiológico.

5. Conclusão

Esta investigação teve como objetivo avaliar o impacto do fotoperíodo na variação biométrica e na composição bioquímica da medusa *Phyllorhiza punctata*, utilizando análise integrada de parâmetros biométricos, composição centesimal e perfil de ácidos gordos em diferentes frações anatómicas, o que permitiu uma caracterização abrangente dos efeitos da luz neste organismo.

Os resultados obtidos demonstraram que o fotoperíodo não exerceu influência significativa no crescimento estrutural das medusas, visto que o diâmetro da campânula se manteve consistente entre os tratamentos (12 h luz : 12 h escuro e 24 h luz contínua). No entanto, verificou-se um aumento significativo da massa fresca e seca sob iluminação contínua, indicando que a disponibilidade luminosa promove alterações na biomassa corporal sem necessariamente haver um aumento do tamanho.

A análise da composição bioquímica evidenciou diferenças entre as frações anatómicas, refletindo a especialização funcional dos tecidos. Os braços orais apresentaram maiores teores de proteína e colagénio, associados à sua função na captura e manipulação de alimento,

enquanto o muco se destacou pelo elevado conteúdo de água e cinzas, demonstrando o seu papel na interação com o meio e na retenção de partículas, tais resultados reforçam a importância da compartimentalização anatômica na interpretação da bioquímica desses organismos.

No que diz respeito ao metabolismo lipídico, observaram-se diferenças marcadas entre frações e regimes de luz. Os ácidos gordos saturados foram predominantes, particularmente nos braços orais, sugerindo um papel estrutural associado à estabilidade das membranas. Por outro lado, a campânula apresentou maior diversidade lipídica, incluindo ácidos gordos polinsaturados, nomeadamente das séries n-3 e n-6, que estão frequentemente associados à atividade metabólica das zooxantelas.

A redução dos ácidos gordos polinsaturados, dos ácidos gordos n-3 e da razão n-3/n-6 sob iluminação contínua sugere a ocorrência de alterações no metabolismo lipídico potencialmente associadas a stress oxidativo e fotoinibição. Estes resultados indicam que, embora a exposição contínua à luz possa favorecer o aumento da biomassa corporal, pode simultaneamente comprometer a qualidade bioquímica dos tecidos, particularmente no que se refere a compostos mais suscetíveis à oxidação.

Os resultados suportam a hipótese de que regimes de fotoperíodo moderados promovem um equilíbrio mais favorável entre crescimento, metabolismo e composição bioquímica, enquanto a exposição contínua à luz pode induzir respostas fisiológicas associadas a desequilíbrios metabólicos. Este padrão demonstra que a relação entre luz e desempenho fisiológico em organismos simbióticos não é linear, sendo dependente de limiares de tolerância associados à atividade fotossintética dos simbiontes.

Este trabalho contribui para o aprofundamento do conhecimento sobre a fisiologia de medusas simbióticas, particularmente no que diz respeito à influência de fatores ambientais na modulação do metabolismo. Apresentando relevância no contexto das alterações ambientais globais, nomeadamente no aumento da intensidade luminosa e da temperatura associadas às mudanças climáticas, fatores que podem influenciar a dinâmica de populações de medusas e a ocorrência de *blooms*. Do ponto de vista biotecnológico, os resultados obtidos reforçam o potencial de *Phyllorhiza punctata* como fonte de biomoléculas de elevado valor, evidenciando que o fotoperíodo pode ser utilizado como uma ferramenta de modulação da sua composição bioquímica. A predominância de colagénio e proteínas estruturais, particularmente nos

braços orais, destaca a relevância desta espécie como alternativa sustentável para a produção de biopolímeros com aplicações nas indústrias biomédica, cosmética e alimentar. A variação no perfil lipídico, especialmente na abundância de ácidos gordos polinsaturados sob diferentes regimes de luz, sugere a possibilidade de otimização de condições de cultivo para direcionar a produção de compostos específicos com interesse nutracêutico e funcional. Entretanto, os efeitos negativos associados à exposição contínua à luz, incluindo a redução de PUFA e potenciais sinais de stress oxidativo, evidenciam a necessidade de um equilíbrio entre maximização de biomassa e manutenção da qualidade bioquímica.

Como perspectivas futuras, recomenda-se a realização de estudos que integrem outros fatores ambientais, bem como a aplicação de abordagens moleculares e metabolômicas que permitam aprofundar os mecanismos subjacentes às respostas observadas. A avaliação da atividade antioxidante e de marcadores de stress oxidativo poderá também contribuir para uma melhor compreensão dos efeitos da luz no sistema simbiótico.

6. Referências Bibliográficas

- Aljbour, S. M., & Agusti, S. (2024). Illuminating *Cassiopea* jellyfish: Biochemical revelations from metabolism to coloration under ultraviolet A and photosynthetically active radiation. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1348864. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1348864>
- Andreosso, A., Bansal, P. S., Smout, M. J., Wilson, D., Seymour, J. E., & Daly, N. L. (2018). Structural characterisation of predicted helical regions in the *Chironex fleckeri* CfTX-1 toxin. *Marine Drugs*, 16(6), 201. <https://doi.org/10.3390/md16060201>
- AOAC, G. (2016). Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International.
- Arai, M. N. (1997). *A functional biology of Scyphozoa*. Chapman & Hall. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-1497-1>
- Arts, M. T., Ackman, R. G., & Holub, B. J. (2001). "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(1), 122-137. <https://doi.org/10.1139/f00-224>
- Avian, M., Motta, G., Prodan, M., Tordoni, E., Macaluso, V., Beran, A., & Tirelli, V. (2021). Asexual reproduction and strobilation of *Sanderia malayensis* (Scyphozoa, Pelagiidae) in relation to temperature: Experimental evidence and implications. *Diversity*, 13(2), 37. <https://doi.org/10.3390/d13020037>
- Bayha, K. M., & Graham, W. M. (2013). Nonindigenous marine jellyfish: Invasiveness, invasibility, and impacts. Em K. Pitt & C. Lucas (Eds.), *Jellyfish blooms*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7015-7_3
- Barreca, M., Spanò, V., Montalbano, A., Cueto, M., Díaz Marrero, A. R., Deniz, I., & Bertoni, F. (2020). Marine anticancer agents: An overview with a particular focus on their chemical classes. *Marine Drugs*, 18(12), 619. <https://doi.org/10.3390/md18120619>
- Barroso, R. A., Rodrigues, T., Campos, A., Almeida, D., Guardiola, F. A., Turkina, M. V., & Antunes, A. (2025). Proteomic diversity of the sea anemone *Actinia fragacea*: Comparative

analysis of nematocyst venom, mucus, and tissue-specific profiles. *Marine Drugs*, 23(2), 79. <https://doi.org/10.3390/md23020079>

Berking, S., & Herrmann, K. (2007). Compartments in Scyphozoa. *The International Journal of Developmental Biology*, 51(3), 221–228. <https://doi.org/10.1387/ijdb.062215sb>

Bolton, T. F., & Graham, W. M. (2004). Morphological variation among populations of an invasive jellyfish. *Marine Ecology Progress Series*, 278, 125–139. <https://doi.org/10.3354/meps278125>

Bosch-Belmar, M., Milisenda, G., Basso, L., Doyle, T. K., Leone, A., & Piraino, S. (2021). Impacts of jellyfish on marine aquaculture and fisheries. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2), 242–259. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1806201>

Botana, M. T., Lewis, R. E., Quaranta, A., Salamin, O., Revol-Cavalier, J., Oakley, C. A., & Davy, S. K. (2025). Octadecanoids as emerging lipid mediators in cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Communications Biology*, 8(1), 1519. <https://doi.org/10.1038/s42003-025-09104-6>

Brinkman, D. L., & Burnell, J. N. (2009). Biochemical and molecular characterisation of cubozoan protein toxins. *Toxicon*, 54(8), 1162–1173. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.02.006>

Cadar, E., Popescu, A., Dragan, A. M. L., Pesterau, A. M., Pascale, C., Anuta, V., & Ionescu, A. M. (2025). Bioactive compounds of marine algae and their potential health and nutraceutical applications: A review. *Marine Drugs*, 23(4), 152. <https://doi.org/10.3390/md23040152>

Calder, P. C. (2015). Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1851(4), 469–484. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.08.010>

Carroll, A. R., Copp, B. R., Davis, R. A., Keyzers, R. A., & Prinsep, M. R. (2019). Marine natural products. *Natural Product Reports*, 36(1), 122–173. <https://doi.org/10.1039/C8NP00092A>

- Cunha, S. A., & Pintado, M. E. (2022). Bioactive peptides derived from marine sources: Biological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 348–370. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.017>
- Dave, D., & Senadheera, T. R. (2021). Marine algae: Ocean-based emerging biomass for functional food ingredients. *Journal of Ocean Technology*, 16(4), 1–10.
- Davy, S. K., Allemand, D., & Weis, V. M. (2012). Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 420–421, 1–10. <https://doi.org/10.1128/mmbr.05014-11>
- Doyle, T. K., Hays, G. C., Harrod, C., & Houghton, J. D. R. (2014). Ecological and societal benefits of jellyfish. Em K. Pitt & C. Lucas (Eds.), *Jellyfish blooms*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7015-7_5
- Duarte, I. M., Marques, S. C., Leandro, S. M., & Calado, R. (2022). An overview of jellyfish aquaculture: For food, feed, pharma and fun. *Reviews in Aquaculture*, 14(1), 265–287. <https://doi.org/10.1111/raq.12597>
- Edelist, D., Angel, D. L., Canning-Clode, J., Gueroun, S. K. M., Aberle, N., Javidpour, J., & Andrade, C. (2021). Jellyfishing in Europe: Current status, knowledge gaps, and future directions towards a sustainable practice. *Sustainability*, 13(22), 12445. <https://doi.org/10.3390/su132212445>
- Enrique-Navarro, A., & Prieto, L. (2020). First record of *Phyllorhiza punctata* (Cnidaria: Rhizostomae: Mastigiidae) in the Northeast Atlantic Ocean. *Cahiers de Biologie Marine*, 61(3), 349–353. <https://doi.org/10.21411/CBM.A.16E1B5E>
- Falkowski, P. G., Dubinsky, Z., Muscatine, L., & Porter, J. W. (1984). Light and the bioenergetics of a symbiotic coral. *Bioscience*, 34(11), 705–709. <https://doi.org/10.2307/1309663>
- Fernández-Álías, A., Quispe-Becerra, J. I., Conde-Caño, M. R., Marcos, C., & Pérez-Ruzafa, A. (2024). Mediterranean biogeography, colonization, expansion, phenology, and life cycle of the invasive jellyfish *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 299, 108699. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2024.108699>

- Fonseca, S., Amaral, M. N., Reis, C. P., & Custódio, L. (2023). Marine natural products as innovative cosmetic ingredients. *Marine Drugs*, 21(3), 170. <https://doi.org/10.3390/md21030170>
- Freeman, C. J., Stoner, E. W., Easson, C. G., Matterson, K. O., & Baker, D. M. (2016). Symbiont carbon and nitrogen assimilation in the *Cassiopea-Symbiodinium* mutualism. *Marine Ecology Progress Series*, 544, 281–286. <https://doi.org/10.3354/meps11605>
- Gallimore, W. (2017). Marine metabolites. Em *Pharmacognosy* (pp. 377–400). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00018-4>
- Galil, B. S., Spanier, E., & Ferguson, W. W. (1990). The scyphomedusae of the Mediterranean coast of Israel, including two Lessepsian migrants new to the Mediterranean. *Zoologische Mededelingen*, 64(7), 95–105.
- Giugliano, R., Della Sala, G., Buonocore, C., Zannella, C., Tedesco, P., Palma Esposito, F., & de Pascale, D. (2023). New imidazolium alkaloids with broad spectrum of action from the marine bacterium *Shewanella aquimarina*. *Pharmaceutics*, 15(8), 2139. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082139>
- Graham, W. M., Martin, D. L., Felder, D. L., Asper, V. L., & Perry, H. M. (2003). Ecological and economic implications of a tropical jellyfish invader in the Gulf of Mexico. *Biological Invasions*, 5(1), 53–69. <https://doi.org/10.1023/A:1024046707234>
- Gueroun, S. K. M., Kéfi-Daly Yahia, O., Deidun, A., Fuentes, V., Piraino, S., & Daly Yahia, M. N. (2015). First record and potential trophic impact of *Phyllorhiza punctata* (Cnidaria: Scyphozoa) along the north Tunisian coast (South Western Mediterranean Sea). *Italian Journal of Zoology*, 82(1), 95–100. <https://doi.org/10.1080/11250003.2014.981306>
- Haddad, M. A., & Nogueira Júnior, M. (2006). Reappearance and seasonality of *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld (Cnidaria, Scyphozoa, Rhizostomeae) medusae in southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(3). <https://doi.org/10.1590/S0101-81752006000300030>
- Halim, N. R. A., Yusof, H. M., & Sarbon, N. M. (2016). Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.02.007>

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.

Helm, R. R., & Dunn, C. W. (2017). Indoles induce metamorphosis in a broad diversity of jellyfish, but not in a crown jelly (Coronatae). *PLoS ONE*, 12, e0188601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188601>

Hoyer, B., Bernhardt, A., Lode, A., Heinemann, S., Sewing, J., Klinger, M., Notbohm, H., & Gelinsky, M. (2014). Jellyfish collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 10(2), 883–892. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.022>

Hsieh, Y. P., Leong, F. M., & Rudloe, J. (2001). Jellyfish as food. In *Jellyfish blooms: Ecological and societal importance* (pp. 11–17). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0722-1_2

Hulbert, A. J. (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *Journal of Theoretical Biology*, 234(2), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.11.024>

Imbs, A. B., & Yakovleva, I. M. (2012). Dynamics of lipid and fatty acid composition of shallow-water corals under thermal stress: An experimental approach. *Coral Reefs*, 31(1), 41–53. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0817-4>

Jagannathan, S. V., Manemann, E. M., Rowe, S. E., Callender, M. C., & Soto, W. (2021). Marine actinomycetes: New sources of biotechnological products. *Marine Drugs*, 19(7), 365. <https://doi.org/10.3390/md19070365>

Jarms, G., & Morandini, A. (2019). *World atlas of jellyfish* (1st ed.). Dölling und Galitz Verlag.

Jones, D. B. (1931). Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. *USDA Circ*, 183(1), 1-21.

Karunarathne, K. D., & De Croos, M. D. S. T. (2022). First record of *Mastigias sidereus* Chun, 1896 and *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria: Scyphozoa) from Sri Lanka. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 38(1), 213–225. <https://doi.org/10.1007/s41208-022-00409-5>

- Khong, N. M., Yusoff, F. M., Jamilah, B., Basri, M., Maznah, I., Chan, K. W., & Nishikawa, J. (2016). Nutritional composition and total collagen content of three commercially important edible jellyfish. *Food Chemistry*, 196, 953–960. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.094>
- Kramp, P. L. (1965). Some medusae (mainly scyphomedusae) from Australian coastal waters. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 89, 257–278.
- Larson, R. J., & Arneson, A. C. (1990). Two medusae new to the coast of California: *Carybdea marsupialis* (Linnaeus, 1758), a cubomedusa, and *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884, a rhizostome scyphomedusa. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*, 89, 130–136.
- Latimer, G. W. (2016). *Official methods of analysis of AOAC International* (20th ed.). AOAC International.
- Lei, H., Jiang, P., & Zhang, D. (2020). Chemical constituents and bioactivities of gorgonian corals. *Current Organic Chemistry*, 24(12), 1315–1330. <https://doi.org/10.2174/1385272824999200608134516>
- Leone, A., Lecci, R. M., Durante, M., Meli, F., & Piraino, S. (2015). The bright side of gelatinous blooms: Nutraceutical value and antioxidant properties of three Mediterranean jellyfish (Scyphozoa). *Marine Drugs*, 13(8), 4654–4681. <https://doi.org/10.3390/md13084654>
- Lesser, M. P. (2006). Oxidative stress in marine environments: Biochemistry and physiological ecology. *Annual Review of Physiology*, 68, 253–278. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001>
- Lesser, M. P. (2011). Coral bleaching: Causes and mechanisms. Em Z. Dubinsky & N. Stambler (Eds.), *Coral reefs: An ecosystem in transition* (pp. 405–419). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_23
- Liu, L., Zheng, Y. Y., Shao, C. L., & Wang, C. Y. (2019). Metabolites from marine invertebrates and their symbiotic microorganisms: Molecular diversity discovery, mining, and application. *Marine Life Science & Technology*, 1(1), 60–94. <https://doi.org/10.1007/s42995-019-00021-2>

- Lobine, D., Rengasamy, K. R., & Mahomoodally, M. F. (2022). Functional foods and bioactive ingredients harnessed from the ocean: Current status and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(21), 5794–5823. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1893643>
- Los, D. A., & Murata, N. (2004). Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1666(1–2), 142–157. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.002>
- Lucas, C. H. (2001). Reproduction and life history strategies of the common jellyfish, *Aurelia aurita*, in relation to its ambient environment. *Hydrobiologia*, 451(1), 229–246. <https://doi.org/10.1023/A:1011836326717>
- Lucas, C. H., & Pitt, K. A. (2010). Jellyfish blooms: Causes, consequences and recent advances. Em K. A. Pitt & C. H. Lucas (Eds.), *Jellyfish blooms* (pp. 9–44). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9749-2>
- Majee, S. B., Avlani, D., & Biswas, G. R. (2017). Pharmacological, pharmaceutical, cosmetic and diagnostic applications of sulfated polysaccharides from marine algae and bacteria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 11(5), 68–77.
- Medina, M., Sharp, V., Ohdera, A., Bellantuono, A., Dalrymple, J., Gamero-Mora, E., & Fitt, W. K. (2021). The upside-down jellyfish *Cassiopea xamachana* as an emerging model system to study cnidarian–algal symbiosis. Em *Handbook of marine model organisms in experimental biology* (pp. 149–171). <https://doi.org/10.1201/9781003217503-9>
- Merquiol, L., Romano, G., Ianora, A., & D’Ambra, I. (2019). Biotechnological applications of scyphomedusae. *Marine Drugs*, 17(11), 604. <https://doi.org/10.3390/md17110604>
- Miki, A., Inaba, S., Baba, T., Kihira, K., Fukada, H., & Oda, M. (2015). Structural and physical properties of collagen extracted from moon jellyfish under neutral pH conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79(10), 1603–1607. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1046367>
- Mortillaro, J. M., Pitt, K. A., Lee, S. Y., & Meziane, T. (2009). Light intensity influences the production and translocation of fatty acids by zooxanthellae in the jellyfish *Cassiopea* sp.

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 378(1–2), 22–30.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.07.003>

Moutinho Cabral, I., Gonçalves, C., Grosso, A. R., & Costa, P. M. (2024). Bioprospecting and marine ‘omics’: Surfing the deep blue sea for novel bioactive proteins and peptides. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1362697. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1362697>

Muscatine, L., McCloskey, L. R., & Marian, R. E. (1981). Estimating the daily contribution of carbon from zooxanthellae to coral animal respiration. *Limnology and Oceanography*, 26(4), 601–611. <https://doi.org/10.4319/lo.1981.26.4.0601>

Muscatine, L., & Porter, J. W. (1977). Reef corals: Mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *BioScience*, 27(7), 454–460. <https://doi.org/10.2307/1297526>

Nadzir, M. M., Nurhayati, R. W., Idris, F. N., & Nguyen, M. H. (2021). Biomedical applications of bacterial exopolysaccharides: A review. *Polymers*, 13, 530. <https://doi.org/10.3390/polym13040530>

Oakley, C. A., & Davy, S. K. (2018). Cell biology of coral bleaching. In *Coral bleaching: Patterns, processes, causes and consequences* (pp. 189–211). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75393-5_8

Ocaña-Luna, A., Sánchez-Ramírez, M., & Aguilar-Durán, R. (2010). First record of *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria: Scyphozoa, Mastigiidae) in Mexico. *Aquatic Invasions*, 5(1), S79–S84. <https://doi.org/10.3391/ai.2010.5.S1.017>

Ohdera, A. H., Abrams, M. J., Ames, C. L., Baker, D. M., Suescún-Bolívar, L. P., Collins, A. G., & Medina, M. (2018). Upside-down but headed in the right direction: Review of the highly versatile *Cassiopea xamachana* system. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 35. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00035>

Papina, M., Meziane, T., & van Woesik, R. (2003). Symbiotic zooxanthellae provide the host coral *Montipora digitata* with polyunsaturated fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 135(4), 533–537. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(03\)00118-0](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00118-0)

- Parisi, M. G., Grimaldi, A., Baranzini, N., La Corte, C., Dara, M., Parrinello, D., & Cammarata, M. (2021). Mesoglea extracellular matrix reorganization during regenerative process in *Anemonia viridis* (Forskål, 1775). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5971. <https://doi.org/10.3390/ijms22115971>
- Parrish, C. C. (2009). Essential fatty acids in aquatic food webs. Em M. T. Arts, M. T. Brett, & M. J. Kainz (Eds.), *Lipids in aquatic ecosystems* (pp. 309–326). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-89366-2>
- Pitt, K. A., & Lucas, C. H. (Eds.). (2014). *Jellyfish blooms*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7015-7>
- Pitt, K. A., & Purcell, J. E. (Eds.). (2009). *Jellyfish blooms: Causes, consequences and recent advances*.
- Prieto, L., Astorga, D., Navarro, G., & Ruiz, J. (2010). Environmental control of phase transition and polyp survival of a massive-outbreaker jellyfish. *PLoS ONE*, 5(11), e13793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013793>
- Prommasith, P., Surayot, U., Autsavapromporn, N., Rod-in, W., Rachtanapun, P., & Wangtueai, S. (2024). Immunomodulatory, anticancer, and antioxidative activities of bioactive peptide fractions from enzymatically hydrolyzed white jellyfish (*Lobonema smithii*). *Foods*, 13(21), 3350. <https://doi.org/10.3390/foods13213350>
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Gegner, H. M., Cárdenas, A., Roth, F., Bougoure, J., & Voolstra, C. R. (2021). Heat stress destabilizes symbiotic nutrient cycling in corals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(5), e2022653118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022653118>
- Ragozzino, C., Casella, V., Coppola, A., Scarpato, S., Buonocore, C., Consiglio, A., & Coppola, D. (2025). Last decade insights in exploiting marine microorganisms as sources of new bioactive natural products. *Marine Drugs*, 23(3), 116. <https://doi.org/10.3390/md23030116>
- Rato, L. D., Pinto, C., Duarte, I. M., Leandro, S. M., & Marques, S. C. (2021). Euryhalinity and thermal tolerance of *Phyllorhiza punctata* (Scyphozoa) scyphostomae: Life history and

physiological trade-offs. *Marine Biology*, 168, 158.
<https://doi.org/10.1007/s00227-021-03969-x>

R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.

Rizgalla, J., & Crocetta, F. (2020). First record of *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomeae) in Libya through social media data mining. *BioInvasions Records*, 9(3), 490–495. <https://doi.org/10.3391/bir.2020.9.3.05>

Rocha, J., Peixe, L., Gomes, N. C. M., & Calado, R. (2011). Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds—An overview of the last decade and future steps for bioprospecting. *Marine Drugs*, 9(10), 1860–1886. <https://doi.org/10.3390/md9101860>

Rodrigues, T., Barroso, R. A., Campos, A., Almeida, D., Guardiola, F. A., Turkina, M. V., & Antunes, A. (2025). Unveiling the bioactive potential of the invasive jellyfish *Phyllorhiza punctata* through integrative transcriptomic and proteomic analyses. *Biomolecules*, 15(8), 1121. <https://doi.org/10.3390/biom15081121>

Romano, G., Almeida, M., Varela Coelho, A., Cutignano, A., Gonçalves, L. G., Hansen, E., & Genevière, A. M. (2022). Biomaterials and bioactive natural products from marine invertebrates: From basic research to innovative applications. *Marine Drugs*, 20(4), 219. <https://doi.org/10.3390/md20040219>

Rosales-Catalan, L., Estrada-Gonzalez, M. C., Rivera-Perez, C., Sanchez, M. A. R., Gamero-Mora, E., Morandini, A. C., & Mendoza-Becerril, M. A. (2021). Genetic and morphological evidence of the presence of *Phyllorhiza punctata* in the southwestern Gulf of California (NE Pacific Ocean). *Aquatic Invasions*, 16(4), 637–652. <https://doi.org/10.3391/ai.2021.16.4.04>

Rotter, A., Barbier, M., Bertoni, F., Bones, A. M., Cancela, M. L., Carlsson, J., & Vasquez, M. I. (2021). The essentials of marine biotechnology. *Frontiers in Marine Science*, 8, 629629. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.629629>

- Senadheera, T. R. L., Hossain, A., & Shahidi, F. (2023). Marine bioactives and their application in the food industry: A review. *Applied Sciences*, 13(21), 12088. <https://doi.org/10.3390/app132112088>
- Sheu, J. H., Chao, C. H., Wang, G. H., Hung, K. C., Duh, C. Y., Chiang, M. Y., & Wu, C. C. (2004). The first A-nor-hippuristanol and two novel 4,5-secosuberosanoids from the gorgonian *Isis hippuris*. *Tetrahedron Letters*, 45(34), 6413–6416. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.07.001>
- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress. *Redox Biology*, 11, 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>
- Sikorskaya, T. V., Ermolenko, E. V., Efimova, K. V., & Dang, L. T. P. (2022). Coral holobionts possess distinct lipid profiles that may be shaped by *Symbiodiniaceae* taxonomy. *Marine Drugs*, 20(8), 485. <https://doi.org/10.3390/md20080485>
- Šimat, V., Rathod, N. B., Čagalj, M., Hamed, I., & Generalić Mekinić, I. (2022). Astaxanthin from crustaceans and their byproducts: A bioactive metabolite candidate for therapeutic application. *Marine Drugs*, 20(3), 206. <https://doi.org/10.3390/md20030206>
- Stonik, V. A., Kicha, A. A., Malyarenko, T. V., & Ivanchina, N. V. (2020). Asterosaponins: Structures, taxonomic distribution, biogenesis and biological activities. *Marine Drugs*, 18(12), 584. <https://doi.org/10.3390/md18120584>
- Suleria, H. A. R., Osborne, S., Masci, P., & Gobe, G. (2015). Marine-based nutraceuticals: An innovative trend in the food and supplement industries. *Marine Drugs*, 13(10), 6336–6351. <https://doi.org/10.3390/md13106336>
- Svetashev, V. I. (2025). Fatty acids in Cnidaria: Distribution and specific functions. *Marine Drugs*, 23(1), 37. <https://doi.org/10.3390/md23010037>
- Takauchi, S., Miyake, H., Watabe, M., Akiyama, H., & Chikuchishin, M. (2024). First records of *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria, Scyphozoa, Mastigiidae) from Nagasaki and Kagoshima Prefectures, Japan. *Check List*, 20(5), 1046–1053. <https://doi.org/10.15560/20.5.1046>

- Teixeira, L. M., Reis, C. P., & Pacheco, R. (2025). Marine-derived compounds combined with nanoparticles: A focus on the biomedical and pharmaceutical sector. *Marine Drugs*, 23(5), 207. <https://doi.org/10.3390/md23050207>
- Upata, M., Siriwoharn, T., Makkhun, S., Yarnpakdee, S., Regenstein, J. M., & Wangtueai, S. (2022). Tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of enzymatic protein hydrolysate from jellyfish (*Lobonema smithii*). *Foods*, 11(4), 615. <https://doi.org/10.3390/foods11040615>
- Vega-Tamayo, J. E., Alcantar-Orozco, E. D. J., Mendoza-Ramírez, R. A., Silva-Díaz, L. G., Aguilar-Salazar, J. A., Salvador-Aguilar, D. H., & Rojas-Molina, A. (2025). Cnidarian toxins: Omics approaches and recombinant proteins. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 31, e20250019. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2025-0019>
- Verity, P. G., Purcell, J. E., & Frischer, M. E. (2011). Seasonal patterns in size and abundance of *Phyllorhiza punctata*: An invasive scyphomedusa in coastal Georgia (USA). *Marine Biology*, 158(10), 2219–2226. <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1727-2>
- Yellowlees, D., Rees, T. A. V., & Leggat, W. (2008). Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(5), 662–689. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x>
- Zafar, A., Ali, I., & Rahayu, F. (2022). Marine seaweeds (biofertilizer) significance in sustainable agricultural activities: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 974(1), 012080. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/974/1/012080>
- Zhang, L., Li, D., Chen, X., & Zhao, F. (2025). Marine-derived diterpenes from 2019 to 2024: Structures, biological activities, synthesis and potential applications. *Marine Drugs*, 23(2), 72. <https://doi.org/10.3390/md23020072>
- Zhao, C., Yang, C., Liu, B., Lin, L., Sarker, S. D., Nahar, L., & Xiao, J. (2018). Bioactive compounds from marine macroalgae and their hypoglycemic benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.001>