

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

TESE

**Presença de dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos: identificação
do perigo em áreas destinadas à maricultura na Baía de Sepetiba, RJ**

Gesilene Mendonça de Oliveira

2009



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**PRESENÇA DE DINOFLAGELADOS BENTÔNICOS
POTENCIALMENTE TÓXICOS: IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO EM
ÁREAS DESTINADAS À MARICULTURA NA BAÍA DE SEPETIBA, RJ**

Gesilene Mendonça de Oliveira

Sob a Orientação do Professor:
Pedro Paulo de Oliveira Silva

Co-orientação da Professora:
Vanessa de Magalhães Ferreira

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciência**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ
Julho de 2009

639.509815 Oliveira, Gesilene Mendonça de,
3 1972-
048p Presença de dinoflagelados
T bentônicos potencialmente tóxicos:
identificação do perigo em áreas
destinadas à maricultura na Baía de
Sepetiba, RJ / Gesilene Mendonça de
oliveira - 2009.
128 f. : il.

Orientador: Pedro Paulo de
Oliveira Silva.

Tese (doutorado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro,
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 92-111

1. Molusco - Criação - Sepetiba,
Baía de, Bacia (RJ) - Teses. 2.
Bivalve (Molusco) - Criação -
Sepetiba, Baía de, Bacia (RJ) -
Teses. 3. Mexilhão - Criação -
Sepetiba, Baía de, Bacia (RJ) -
Teses. 4. Pescados - Contaminação -
Sepetiba, Baía de, Bacia (RJ) -
Teses. I. Silva, Pedro Paulo de
Oliveira, 1957-. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.
III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

GESILENE MENDONÇA DE OLIVEIRA

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

TESE APROVADA EM: 10 de Julho de 2009

Pedro Paulo de Oliveira Silva (Dr.) UFRRJ
(Orientador)

Glênio Cavalcanti di Barros (Dr.) UFRPE

Gleyci Aparecida Oliveira Moser (Dr^a.) UERJ

Márcia Tereza Lutterbach (Dr^a.) INT

Verônica Lobato (Dr^a) UFRRJ

Jeanete Lopes Naves (Dr^a) UNIESP

Hélcio Resende Borba (Dr.) UFRRJ

DEDICATÓRIA

A Deus, Senhor da minha vida. E aos meus grandes e eternos amores, Silvio Luz (esposo) e Filipe Luz (filho) que me incentivaram com sua alegria e sorrisos dos quais me libertam de qualquer sentimento de culpa dos minutos não dedicados a eles.

AGRADECIMENTO

A minha amada e querida Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ agradeço por sua participação no meu caminhar acadêmico, em minha formação profissional (discente e docente) ao longo destes anos.

A minha preciosa família.... meus pais Ueliton P. de Oliveira e Marlene M. de Mendonça pelo amor, carinho, zelo, modelo de caráter..... Aqui deixo o meu reconhecimento de que muito do que sou e tenho eu devo a vocês..... E a minha irmã caçula Marcilene M. de Oliveira pelo seu carinho, estímulo e orgulho (irmã coruja) que me fizeram traçar objetivos e acreditar em um futuro muito, muito melhor.

Aos meus pais de coração, Air Assumpção da Luz e Leonice Maria dos Anjos (Sogros) agradeço por toda ajuda, confiança e incentivo..... por contribuírem de forma indizível para o meu crescimento profissional.

Ao Orientador Professor Dr. Pedro Paulo de Oliveira Silva agradeço pela orientação científica e principalmente, pelo incentivo, disponibilidade e amizade demonstrada. A confiança que sempre me transmitiu e a ajuda constante e incansável, especialmente nos momentos mais difíceis, permitiu-me continuar a acreditar no sucesso desta tese. Por tudo isto, pelo bom mestre, amigo, um pai que se revelou o meu sincero e afetuoso obrigada.

De forma muito especial quero agradecer a Co-orientadora Dra. Vanessa de Margalhães Ferreira por todos os conhecimentos transmitidos e apoio incondicional na elaboração desta tese, pelo seu profissionalismo, mas principalmente pela grande amizade que no decorrer destes longos anos de convivência nos uniu e hoje os sentimentos que nos cercam foram transformados em laços mais fortes, a você minha irmã de coração o meu muito obrigada!

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ pela bolsa de doutoramento concedida nos últimos quatro anos. E pela contemplação do projeto referente a esta tese com o Auxílio AQP1 que possibilitou a aquisição do tão sonhado e desejado Microscópio Óptico Invertido (Nikon ECLIPSE TS100F).

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (**PPGCTA**) da UFRRJ pela oportunidade concedida.

Aos Mestres que ao longo do meu caminhar acadêmico sempre foram modelos de inspiração e motivação para o ingresso na carreira docente, cito em especial com profundo carinho e admiração os professores: Marilene Gama (ensino fundamental, Português); Raimundo Nonato (Ensino médio, Biologia); Dr. Antônio Assis Vieira (Produção de monogástricos); Dr. Pedro Paulo de Oliveira Silva (Tecnologia de Pescado); e Dr. Carlos Alberto da Rocha Rosa (Micotoxinas).

Ao Oceanógrafo Luiz Eduardo S. Moraes agradeço a preciosa ajuda no tratamento dos dados estatísticos. A sua disponibilidade em atender os inúmeros pedidos de socorro (o nosso Santo das causas impossíveis, rsrs) me permitiram encontrar informações e soluções que em muito contribuíram para a realização desta tese. Obrigada por tudo, obrigada por sua amizade.

A professora Maria Beatriz B. de Barros do Laboratório de Botânica do Instituto de Biologia da UFRRJ pela imensa ajuda na classificação taxonômica das macroalgas. A sua contribuição foi muito importante para o enriquecimento dos resultados abordados nesta tese. Obrigada pela atenção, disponibilidade, pelo carinho com que sempre me recebeu em seu laboratório, obrigada por sua amizade.

Ao Técnico Geraldo Baêta do laboratório de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da EMBRAPA AGROBIOLOGIA/UFRRJ pela amabilidade de me receber em seu laboratório, pela

disponibilização de todo material usado no preparo da microscopia, por me ouvir e tentar esclarecer as dúvidas referentes à MEV dos dinoflagelados.

A Secretaria de Agricultura e Meio Ambiente da Prefeitura Municipal de Mangaratiba (PMM) e a Associação de Maricultores de Mangaratiba (**AMAR**) pelo trabalho de parceria estabelecido com o laboratório ToxMar que desde 2007 vem possibilitando o desenvolvimento de muitas pesquisas e que em muito contribuiu para a realização deste trabalho.

Ao Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía da Ilha Grande- **IEDBIG** por ceder a água do mar filtrada e estéril usada para o isolamento dos dinoflagelados.

A Equipe ToxMar: Pedro, Elizete, Vanessa, Aderbson, Geisi, Ana, Milena, Elisa, Luizão e Robertinho pela sincera amizade, pelos momentos de alegria, e principalmente pela força nos momentos difíceis, como por exemplo, coleta com o mar agitado....valeu segurarem na minha mão! Obrigada amigos toxmarinos....

A Bióloga Milena M. D. Pereira pela amizade e valiosa ajuda durante os períodos de coleta, por ser tão solícita, a minha ToxRevisora oficial. Obrigada por tudo, tudo mesmo....

Ao amigo Lúcio Gualaude, barqueiro e mergulhador, que muito me auxiliou no decorrer das coletas realizadas no ano de 2008, o meu imenso e muito obrigada! O seu profissionalismo e destreza na arte do saber fazer, pescador de fato, me fez aos poucos perder o medo do mar e até mesmo enfrentar as condições de mau tempo (chuva e vento) possibilitando levar a minha tarefa à cabo.

A Equipe de Mergulhadores: o Oceanógrafo Luís Eduardo Moraes (INPE), o Biólogo Marcus Paulo Carvalho (Universidade Castelo Branco – UCB) e Lúcio Gualaude pela ajuda nos trabalhos de campo, especificamente na coleta das macroalgas. Sem a colaboração de vocês seria difícil a concretização do trabalho porque **eu não sei nadar!**

À amiga Josane Maria Resende pelo seu constante interesse e ajuda, principalmente quanto às questões metodológicas para a execução do trabalho de campo. Obrigada por me emprestar as peneiras com diferentes malhas para limpar (sedimento e detritos) as amostras de dinoflagelados. Você não tem idéia do quanto facilitou o trabalho, obrigada amiga!

As amigas Mariza G. Bahia e Bárbara Cristina Menezes pela a amizade e convívio diário. E pela inestimável ajuda no desenrolar das questões burocráticas do dia-a-dia. Obrigada!

Ao estagiário Roberto C. G. Junior (ToxMar), discente do curso de graduação em Engenharia de Alimentos, obrigada pela ajuda e permanente disponibilidade, principalmente nos momentos mais difíceis.

As estagiárias Thaiza S. P. Souza e Laize F. Pinheiro, discentes do curso de graduação em Engenharia de Alimentos, que apesar do pouco tempo de permanência no laboratório ToxMar, sempre se mostraram muito solícitas, interessadas, presentes e amigas.

E, finalmente um agradecimento muito especial ao meu esposo **Silvio** pelo incentivo diário, disponibilidade, paciência, amizade, paixão e amor que me dedicou até hoje... e ao meu filho **Filipe**, mesmo que em sua inocência e com muita alegria, pode contribuir de maneira inexprimível na conquista desta tese e dos ideais já realizados.

RESUMO

OLIVEIRA, Gesilene Mendonça. **Presença de dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos: identificação do perigo em áreas destinadas à maricultura na Baía de Sepetiba, RJ.** 2009. 128f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

A malacocultura (cultivo de moluscos) é a segunda atividade mais expressiva da maricultura brasileira, onde o cultivo de moluscos bivalvos (mexilhões, ostras e vieiras) destaca-se nacionalmente. Como alimento utilizado pelo homem, os bivalvos são considerados de excelente valor nutricional, pois contém proteínas de excelente valor biológico, baixo teor de gorduras, vitaminas, minerais e carboidratos. No entanto, a contaminação destes organismos por algas tóxicas e pelas ficotoxinas constitui um perigo para a saúde dos consumidores, principalmente nas áreas de produção sem monitoramento, consideradas pela Comissão Oceanográfica Intergovernamental de alto risco para a saúde pública. O monitoramento efetivo é a única forma de garantir a qualidade higiênico-sanitária do molusco comercializado e a segurança do consumidor. Nas Baías de Sepetiba e Ilha Grande (RJ) a ficotoxina diarréica ácido okadaico (AO) foi detectada em mexilhões de bancos naturais e cultivados. Sua produção foi associada a dinoflagelados planctônicos do gênero *Dinophysis*. No entanto, o papel de dinoflagelados bentônicos na produção de AO e de outras ficotoxinas de origem bentônica ainda é pouco estudado. Neste contexto, o presente estudo objetivou investigar a ocorrência de dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos associados à macroalgas coletadas nas ilhas Guaíba e Marambaia por serem áreas de cultivo e de extração natural de mexilhões (*Perna perna*). Macroalgas foram coletadas mensalmente (janeiro a dezembro de 2008) por mergulho livre (1 metro), usando bolsa de polietileno. Em seguida foram transferidas para garrafas de polietileno e agitadas (1 minuto) para separar os dinoflagelados epífitos. O material foi filtrado em diferentes malhas (150, 115 e 20 μ m) e o volume final de 250ml foi concentrado e fixado. Somente os dinoflagelados potencialmente tóxicos e nocivos foram identificados e quantificados (Método de Uthermöhl) sob microscopia invertida. As macroalgas foram fixadas e identificadas. A densidade celular de dinoflagelados foi expressa em relação ao peso seco da macroalga (células.g⁻¹). Foram identificadas 32 espécies de macroalgas (8 feofíceas, 6 clorofíceas e 18 rodofíceas). A partir de 97 amostras de dinoflagelados identificou-se 11 morfotipos de dinoflagelados: *Coolia* sp., *Prorocentrum* cf. *arenarium*, *P.* cf. *balticum*, *P.* cf. *concovum*, *P.* cf. *emarginatum*, *P.* *gracile*, *P.* cf. *lima*, *P.* cf. *mexicanum*, *P.* *micans*, *Ostreopsis* sp1 e sp2 ocorrendo em *Padina*, *Sargassum*, *Codium*, *Caulerpa* e *Laurência*, substratos mais frequentes no período estudado. A análise de variância bifatorial mostrou diferenças espaciais e temporais entre as concentrações de *Ostreopsis* e *Prorocentrum*. *Ostreopsis* ocorreu ao longo de todo o ano, em ambos locais associados principalmente à *Padina gymnospora*. A ilha Guaíba apresentou constantemente maiores densidades celulares e riqueza de *Prorocentrum*. O verão foi à época do ano onde *Prorocentrum* foi mais abundante. *Coolia* apresentou ocorrência pontual e esporádica. O conhecimento da ocorrência de dinoflagelados potencialmente tóxicos é importante para melhor compreender a real implicação dessas espécies na produção e transferência de toxinas na teia trófica costeira, além de poder contribuir, com as informações geradas, para o desenvolvimento da maricultura responsável no litoral sul do Rio de Janeiro sob a perspectiva do alimento seguro.

Palavras-chave: Mexilhões, Ficotoxinas, Alimento seguro.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Gesilene Mendonça. **Presence of potentially toxic benthic dinoflagellates: identification of hazard in shellfish growing areas in the Sepetiba Bay, RJ.** 2009. 128s.. Thesis (Ph.D. in Science and Technology of Food). Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

The malacoculture (cultivation of shellfish) is the second most significant activity of the Brazilian mariculture, where the cultivation of bivalve molluscs (mussels, oysters and scallops) stands out nationally. The bivalves show an excellent nutritional value when they are used as food by humans, containing a great biological value of protein, low in fat, vitamins, minerals and carbohydrates. However, their contamination by toxic algae and its phycotoxins represents a danger to consumer's health, particularly in the production areas without monitoring, considered by the Intergovernmental Oceanographic Commission of high risk to public health. The effective monitoring is the only way to ensure the hygienic-sanitary quality of commercialized shellfish and consumer's safety. The diarrhetic phycotoxin okadaic acid (OA) was detected in mussels from natural beds and from shellfish farms located in the bays of Sepetiba and Ilha Grande (RJ). Its production was associated with planktonic dinoflagellates of the *Dinophysis* genus. However, the role of benthic dinoflagellates in the production of OA and other benthic phycotoxins is still poorly studied. In this context, this study aimed to investigate the occurrence of potentially toxic benthic dinoflagellates associated with macroalgae collected in Guaiba and Marambaia islands, areas of cultivation and extraction of mussels (*Perna perna*). Macroalgae were collected monthly (january to december 2008) by snorkeling (1 meter), using a polyethylene bag, then were transferred to polyethylene bottles and agitated (1 minute) to separate the epiphytic dinoflagellates. The material was filtered on different meshes (150, 115 and 20 μm) and the final volume of 250ml was concentrated and set. Only the potentially toxic and harmful dinoflagellates were identified and quantified (Method of Uthermö) under inverted microscope. The macroalgae were fixed and identified. The cell density of dinoflagellates was expressed on the dry weight of macroalgae (células.g-1). Were identified 32 species of macroalgae (8 Phaeophytes, 6 chlorophytes and 18 rhodophytes). From 97 samples of dinoflagellates was identified 11 morphotypes of dinoflagellates: *Coolia* sp., *Prorocentrum* cf. *arenarium*, *P.* cf. *balticum*, *P.* cf. *concovum*, *P.* cf. *emarginatum*, *P. gracilis*, *P.* cf. *lima*, *P.* cf. *mexicanum*, *P. micans*, *Ostreopsis* sp1 and sp2 occurring in *Padina*, *Sargassum*, *Codium*, *Caulerpa* and *Laurence*, substrates frequently during the study period. The analysis of variance bifactorial showed differences between spatial and temporal concentrations of *Ostreopsis* and *Prorocentrum*. *Ostreopsis* occurred throughout the year on both sites associated mainly with *Padina gymnospora*. The Guaiba island constantly showed higher cell densities and richness of *Prorocentrum*. Summer was the season of year when *Prorocentrum* was more abundant. *Coolia* showed punctual and sporadic occurrence. The knowledge of the occurrence of potentially toxic dinoflagellates is important to better understand the real implications of these species in the production and transference of toxins in coastal trophic web, and can help generating information to the development of mariculture in the southern coast of Rio de Janeiro from the perspective of safe food.

Key words: Mussels, Phycotoxins, Safe food.

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
Figura 01. Valva direita do mexilhão <i>Mytilus edulis</i> . A) Aspecto externo, mostrando linhas de crescimento e umbo; B) Aspecto interno, mostrando borda interna do perióstraco, cicatriz do músculo adutor posterior e umbo (em destaque). Adaptado de documento da Internet FAO (2008). Disponível em: < http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Medulis/en >.	05
Figura 02. Anatomia interna de um mitilídeo <i>Perna perna</i> . Corte em seção longitudinal. Visão em meia valva. Adaptado de: < http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca/pe/profil/mussel-moule/mussel-moule-e.php >.	05
Figura 03. Percentual de produção mundial de organismos cultivados segundo volume produzido (FAO, 2009).	13
Figura 04. Estrutura química do Ácido Okadaico. Modificado de FAO (2004).	19
Figura 05. Dinoflagelados planctônicos do gênero <i>Dinophysis</i> . Implicados no Envenenamento Diarréico por Moluscos. A) <i>D. acuta</i> , espécie tipo do gênero; B) <i>D. acuminata</i> espécie mais abundante e frequente na Baía de Sepetiba, RJ. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).	20
Figura 06. Dinoflagelados bentônicos do gênero <i>Prorocentrum</i> . A) <i>P. micans</i> espécie tipo deste gênero. B) <i>P. lima</i> espécie implicada no Envenenamento Diarréico por Moluscos e Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).	21
Figura 07. Estrutura química de Ciguatoxinas. Modificada de FAO (2004).	21
Figura 08. Estrutura química de Maitotoxinas. Modificada de FAO (2004).	22
Figura 09. Dinoflagelado epibentônico <i>Gambierdiscus toxicus</i> . Implicado no Envenenamento Ciguatera por Pescado. A) Célula exibindo sua epiteca e Sulcus. B) Célula em visão apical. C) Célula em visão antapical. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).	24
Figura 10. Dinoflagelados epibentônicos <i>Ostreopsis</i> em visão apical. A) <i>O. siamensis</i> espécie tipo do gênero. B) <i>O. lenticularis</i> . C) <i>O. ovata</i> . Implicados no Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).	24
Figura 11. Dinoflagelado epibentônico <i>Coolia monotis</i> . Implicado no Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).	25
Figura 12. Dinoflagelado epibentônico <i>Amphidinium carterae</i> em visão ventral. Implicado no Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).	25
Figura 13. Distribuição da ocorrência de áreas endêmicas para o Envenenamento Ciguatera por Pescado. Disponível em: < http://www2.oceanit.com/services/research_development/resear8.jpg >.	29

- Figura 14.** Floração nociva no entorno de fazenda de cultivo de macroalgas. Principais organismos implicados dinoflagelados atecados Gymnodinióides (manchas avermelhadas) no litoral de Mangaratiba em 25 de maio de 2009. 32
- Figura 15.** Orientações básicas de taxonomia de dinoflagelados. **A** célula desmoconte; **B** célula dinoconte; **C** tabulação das placas tecais de um dinoflagelado em visão ventral, onde: (P_o) poro apical, (') placas apicais, (") placas pré cingulares, (""') pós-cingulares, (""'') antapicais; **D** dinoflagelado atecado onde (Ch) cloroplastos, (N) núcleo; **E** dinoflagelado tecado em visão apical onde: (a) placas intercalares anteriores; **F** dinoflagelado tecado em visão antapical onde: (S) sulcus. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997). 34
- Figura 16.** Área de Estudo: Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil, com indicação da localização dos pontos de coleta assinalados com um círculo. P1 - Ilha Guaíba e P2 - Ilha da Marambaía, município de Mangaratiba. Detalhes das cartas náuticas 1621 ER1, 2ª edição e 1607 ER1, 1ª edição. Diretoria de Hidrografia e Navegação da Marinha do Brasil. Escala 1:5000. 39
- Figura 17.** Fazenda marinha da AMAR, Ilha Guaíba, Baía de Sepetiba, RJ. 40
- Figura 18.** Banco natural de mexilhões (*Perna perna*) em Pescaria Velha na Ilha da Marambaía, baía de Sepetiba, RJ. Foto Oliveira (2008). 40
- Figura 19.** Fotomicrografias de *Coolia*, células em visão dorsal. a) Microscopia de campo claro, aumento de 100x. b) a mesma célula em aumento de 200x, assinalado o apex deslocado para a esquerda da célula. c) Célula em contraste de fase, aumento de 200x, assinalado a lista cingular. d) Célula em microscopia de campo claro, aumento de 400x, (e) epiteca e (h) hipoteca, assinalado o deslocamento do apex para a esquerda da célula. 44
- Figura 20.** Fotomicrografias de *Prorocentrum* cf. *arenarium* células em visão valvar. a) Valva esquerda, assinalado a região anterior, retilínea. b) Valva direita, assinalada a pequena indentação localizada na região anterior da valva (área do complexo de placas dos poros periflagelares). c) célula repleta de estruturas semelhantes a vacúolos alimentares, com pirenóide central visível (p). d) Célula em aumento de 400x, pirenóide central visível (p) e poros ornamentais cobrindo toda a valva. Demais fotos em aumento de 200x. Escala = 10µm 46
- Figura 21.** Fotomicrografia de *Prorocentrum* cf. *balticum* em visão valvar direita. Microscopia de campo claro, aumento de 400x. Assinalado os dois pequenos espinhos anteriores. Escala = 10µm. 47
- Figura 22.** Fotomicrografias de *Prorocentrum* cf. *concovum* em visão valvar. a) célula em formato ovalado quase em visão posterior. b) Valva direita, assinalada a indentação onde se localiza a área periflagelar, pirenóide (p) central visível; margem anterior da valva esquerda, menos escavada, visível por trás da valva direita. c) teca vazia, coberta de aureolas. d) Célula em aumento de 400x assinalando a indentação na região anterior e pirenóide central. As demais fotomicrografias em aumento de 200x. Escala = 10µm. 48
- Figura 23.** Fotomicrografias de *Prorocentrum* cf. *emarginatum* em visão valvar. a) Célula em aumento de 100x, valva direita. b) Célula em aumento de 200x, valva esquerda. c) Célula em aumento de 400x, valva direita; assinalada a profunda indentação na região anterior, onde se localiza a área periflagelar. d) Célula em aumento de 400x, valva esquerda; assinalada a indentação menos pronunciada na região anterior da célula. Escala = 10µm. 49
- Figura 24.** Fotomicrografias de *Prorocentrum gracile* (= *P. sigmoides*) em aumento de 50

200x. a) Microscopia de contraste de fase, valva esquerda ornamentada com poros grandes, assinalado espinho longo. b) Valva direita exibindo em sua região anterior discreta indentação onde se localiza a área periflagelar; assinalado o longo espinho anterior. Escala = 10µm.

Figura 25. Fotomicrografia de *Prorocentrum cf. lima* em visão valvar. a) Célula em aumento de 100x, microscopia de contraste de fase, assinalado o pirenóide central. b) Valva direita mostrando a indentação localizada na parte anterior (área periflagelar) e pirenóide central (p); microscopia de campo claro em aumento de 400x. c) Valva direita assinalando a indentação onde se localiza a área periflagelar e por trás a parte anterior da valva esquerda reta; pirenóide central (p); microscopia de campo claro em aumento de 400x. d) Valva direita em microscopia de contraste de fase, aumento de 200x. Escala = 10µm. 51

Figura 26. Fotomicrografias de *Prorocentrum cf. mexicanum* em visão valvar, microscopia de campo claro. a) Valva esquerda, em aumento de 400x, com pequeno espinho anterior. b) Valva direita, em aumento de 400x, região anterior mostrando discreta indentação onde se localiza a área periflagelar e, assinalado o pequeno espinho anterior. c) idem ao item anterior, com a discreta indentação mais visível. d) Valva direita, em aumento de 200x, discreta indentação em forma de v, com espinho anterior. Escala = 10µm. 53

Figura 27. Fotomicrografias de *Prorocentrum micans*. a) Célula em contraste de fase, aumento de 400x, assinalado o espinho alado de grande tamanho. b) A mesma célula em microscopia de campo claro; a membrana do espinho alado visível. c) Valva direita, microscopia de campo claro, aumento de 400x; assinalado o espinho e a discreta indentação onde se localiza a área periflagelar; observar a ornamentação da valva coberta uniformemente por poros de grande tamanho. d) célula em aumento de 200x; valva direita exibindo espinho, um dos flagelos e indentação na região anterior (área periflagelar). Escala = 10µm. 54

Figura 28. Fotomicrografias de *Ostreopsis* sp1. a, b) Microscopia de campo claro no aumento de 200x, células em visão apical assinalada a região ventral afunilada. c) Célula em microscopia de contraste de fase no aumento de 400x. d) Duas células, em microscopia de campo claro, aumento de 200x, assinalada a presença de corpos avermelhados. Escala = 10µm. 56

Figura 29. Fotomicrografias de *Ostreopsis* sp2. a) Células em microscopia de campo claro, aumento de 200x; região ventral afunilada e dorsal arredondada. b) As mesmas células em contraste de fase, assinalada estrutura semelhante ao pedúnculo alimentar sendo estendido à partir da região ventral (notar que em campo claro essa estrutura não é tão visível). c) Célula em aumento de 400x, microscopia de campo claro. d) Célula em visão apical, aumento, de 400x, presença de corpo avermelhado (*). Escala = 10µm. 57

Figura 30. Distribuição espacial e sazonal de *Ostreopsis* (densidade celular.grama⁻¹ de peso seco de macroalga), nas ilhas Guaíba e Marambaía durante o período analisado. Dados normalizados por logaritimização natural ($y=\ln$ densidade celular). 61

Figura 31. Distribuição espacial e sazonal de *Prorocentrum* (densidade celular.grama⁻¹ de peso seco de macroalga), nas ilhas Guaíba e Marambaía durante o período analisado. Dados normalizados por logaritimização natural ($y=\ln$ densidade celular). 64

Figura 32. Presença de *Ostreopsis* spp. nas espécies de macroalgas de maior frequência nas ilhas Guaíba e Marambaía, baía de Sepetiba (RJ) durante o período de janeiro a dezembro de 2008. Unidade: densidade celular.grama⁻¹ de peso seco de macroalgas. 68

Figura 33. Macroalgas disponíveis como substrato para dinoflagelados epifíticos 69

potencialmente nocivos, agrupadas por pigmento, para as ilhas Guaíba e Marambaía durante o período analisado.

- Figura 34.** Exemplares de *Padina gymnospora*, a feofícea mais abundante e frequente nas ilhas Guaíba e Marambaía (baía de Sepetiba) durante o período analisado. 69
- Figura 35.** Exemplares de *Sargassum*, a feofícea abundante e frequente nas ilhas Guaíba e Marambaía (baía de Sepetiba) durante o período analisado. 70
- Figura 36.** Clorofícea *Codium decorticatum* epifitado por rodofícea *Amphiroa fascis* (assinalada com as setas brancas). 71
- Figura 37.** A clorofícea *Codium decorticatum*, coletada na ilha Guaíba em janeiro de 2008, ainda na embalagem com a água do mar e microalgas epifíticas. No detalhe o revestimento de mucilagem produzido pela macroalga. 72
- Figura 38.** A clorofícea *Caulerpa scalpelliformis*, coletada na ilha da Marambaía em abril de 2008. Notar a ramificação do talo da macroalga, aumentando a relação superfície volume da macroalga. 72
- Figura 39.** Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na feofícea *Padina gymnospora*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado. 76
- Figura 40.** Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre a macroalga *Padina gymnospora* coletada no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ. 77
- Figura 41.** Densidade celular dos dinoflagelados presentes na feofícea *Padina* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células de dinoflagelados. grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica. 77
- Figura 42.** Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na feofícea *Sargassum*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado. 78
- Figura 43.** Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre *Sargassum* coletado no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ. 79
- Figura 44.** Densidade celular dos dinoflagelados presentes na feofícea *Sargassum* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica. 79
- Figura 45.** Densidade celular dos dinoflagelados presentes na clorofícea *Codium* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica. 80
- Figura 46.** Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na clorofícea *Codium*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado. 81
- Figura 47.** Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre *Codium* coletado no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ. 82
- Figura 48.** Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na clorofícea *Caulerpa*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado. 82

Figura 49. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na clorofícea <i>Caulerpa</i> na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama ⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.	83
Figura 50. Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na rodofícea <i>Laurencia</i> , amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado.	84
Figura 51. Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre <i>Laurencia</i> coletado no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ.	85
Figura 52. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na rodofícea <i>Laurencia</i> na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama ⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.	86
Figura 53. Plano canônico da Análise de Redundância (RDA) utilizando a matriz de abundâncias de dinoflagelados (espécies de <i>Prorocentrum</i>), macroalgas agrupadas por pigmento e a matriz de variáveis ambientais significativas temperatura (modo principal de variação, eixo I) e salinidade (modo secundário de variação, eixo II).	88

LISTA DE QUADROS

Quadro 01: Composição bioquímica relativa (%) do mexilhão <i>Perna perna</i> .	07
Quadro 02. Dados utilizados no Cálculo da Dose Aguda de Referência para a ficotoxina diarréica ácido okadaico (e equivalentes) por pesquisadores <i>Ad hoc</i> da FAO/IOC/WHO para Biotoxinas Marinhas (UNESCO, 2005) comparado ao recomendado pela <i>European Food Safety Authority</i> (ALEXANDER et al., 2008).	16
Quadro 03. Espécies de dinoflagelados toxigênicas e toxinas produzidas em águas marinhas tropicais e subtropicais	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Presença de dinoflagelados epibentônicos do gênero <i>Coolia</i> , nas ilhas Guaíba e Marambaía (Mangaratiba, Baía de Sepetiba, RJ) durante o período analisado. Unidade: densidade celular. grama ⁻¹ de peso seco de macroalgas. Valores Médios.	59
Tabela 02. Presença de dinoflagelados epibentônicos do gênero <i>Ostreopsis</i> , nas Ilhas Guaíba e Marambaía (Mangaratiba, Baía de Sepetiba, RJ) durante o período analisado. Unidade: densidade celular. grama ⁻¹ de peso seco de macroalgas. Valores Médios.	60
Tabela 03. Valores máximos de densidade celular de <i>Ostreopsis</i> spp. encontrados no presente trabalho e na literatura consultada.	62
Tabela 04. Presença de dinoflagelados epibentônicos do gênero <i>Prorocentrum</i> , nas Ilhas Guaíba e Marambaía (Mangaratiba, Baía de Sepetiba, RJ) durante o período analisado. Unidade: densidade celular. grama ⁻¹ de peso seco de macroalgas.	66
Tabela 05. Valores máximos de densidade celular de <i>Prorocentrum lima</i> encontrados no presente trabalho e na literatura consultada.	67
Tabela 06. Abundâncias relativas (valores percentuais) de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes nas macroalgas mais frequentes para a área de estudo (ilhas Guaíba e Marambaía, baía de Sepetiba) durante o período avaliado.	75
Tabela 07. Variação dos fatores abióticos mensurados nas ilhas Guaíba e Marambaía, baía de Sepetiba (RJ) durante o período de janeiro a dezembro de 2008.	86
Tabela 08. Resultado do teste de Monte Carlo para significância das relações entre parâmetros e variáveis ambientais e distribuição de dinoflagelados <i>Prorocentrum</i> spp. ($p \leq 0,05$) na ilha Guaíba, baía de Sepetiba.	87
Tabela 09. Autovalores e inércia total obtido através da análise de redundância a partir dos parâmetros e variáveis abióticos fornecidos. Modelo original: primeira análise antes do teste de significância com todas as variáveis abióticas; Modelo final: contendo apenas as variáveis significativamente relacionadas à distribuição de <i>Prorocentrum</i> spp., na ilha Guaíba, selecionadas pelo Teste de Monte Carlo.	87

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE QUADROS	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	03
2.1 Objetivo geral	03
2.2 Objetivos específicos	03
3 REVISÃO DE LITERATURA	04
3.1 Moluscos Bivalvos	04
3.1.1 Taxonomia e aspectos gerais	04
3.1.2 Morfofisiologia	04
3.1.3. Moluscos na alimentação humana	06
3.1.3.1 Valor nutricional	06
3.1.4 Segurança de alimentos marinhos	07
3.1.5 Cadeia produtiva	09
3.2. Malacocultura	12
3.3. Ficotoxinas e a Tecnologia de Alimentos	15
3.4 Avaliação de Risco	17
3.4.1 Identificação do perigo	17
3.4.1.1 Ocadaiatos	18
3.4.1.2 Ciguatoxinas e maitotoxinas	21
3.4.2 Caracterização do perigo	25
3.4.2.1 Ocadaiatos	26
3.4.2.2 Ciguatoxinas e maitotoxinas	26
3.4.3 Avaliação da exposição	27
3.4.3.1 Ocadaiatos	27
3.4.3.2 Ciguatoxinas e maitotoxinas	28
3.4.4 Caracterização do risco	30
3.5 Dinoflagelados Epibentônicos Potencialmente Nocivos	31
3.5.1 Aspectos taxonômicos	33
3.5.2 <i>Coolia</i> (Meunier 1919)	35
3.5.3 <i>Ostreopsis</i> (Schimidt 1901)	35
3.5.4 <i>Prorocentrum</i> (Ehremberg 1833)	35
3.5.5 <i>Gambierdiscus</i> (Adachi & Fukuyo 1979)	36
3.5.6 Florações de microalgas bentônicas	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Área de Estudo	39
4.2 Coleta	40
4.2.1 Macroalgas	41
4.2.2 Microalgas	41
4.2.3 Variáveis abióticas	41
4.3 Identificação e Quantificação dos Dinoflagelados Epibentônicos	42

4.4 Identificação das Macroalgas	42
4.5 Análise Estatística	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 Identificação dos Dinoflagelados	44
5.1.1 <i>Coolia</i> spp. (Meunier 1919)	44
5.1.2 <i>Prorocentrum arenarium</i> (Faust 1994)	45
5.1.3 <i>Prorocentrum balticum</i> (Lohmam 1908)	47
5.1.4 <i>Prorocentrum concavum</i> (Fukuyo 1981)	48
5.1.5 <i>Prorocentrum emarginatum</i> (Fukuyo 1981)	49
5.1.6 <i>Prorocentrum gracile</i> (Schmitt 1895)	50
5.1.7 <i>Prorocentrum lima</i> (Ehrenberg 1860)	51
5.1.8 <i>Prorocentrum mexicanum</i> (Tafall 1942)	53
5.1.9 <i>Prorocentrum micans</i> (Ehrenberg 1834)	54
5.1.10 <i>Ostreopsis</i> (Fukuyo 1981)	56
5.2 Distribuição Espacial e Temporal	59
5.2.1 <i>Coolia</i> spp.	59
5.2.2 <i>Ostreopsis</i> spp.	60
5.2.3 <i>Prorocentrum</i> spp.	63
5.3 Relação entre Dinoflagelados Potencialmente Nocivos e Macroalgas	67
5.3.1 Aspectos estruturais	68
5.3.2 Aspectos relativos à abundância relativa dos dinoflagelados identificados	74
5.3.2.1 No substrato <i>Padina gymnospora</i>	76
5.3.2.2 No substrato <i>Sargassum</i> spp.	78
5.3.2.3 No substrato <i>Codium</i> spp.	80
5.3.2.4 No substrato <i>Caulerpa</i> spp.	82
5.3.2.5 No substrato <i>Laurencia</i> spp.	83
5.4 Influência dos Fatores Bióticos e Abióticos na Distribuição de Dinoflagelados Epibentônicos	86
6 CONCLUSÕES	90
7 RECOMENDAÇÕES	91
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1 INTRODUÇÃO

A importância das microalgas na teia trófica marinha pode ser evidenciada por suas principais características, como a atividade fotossintética, ser produtora de biomassa, ser a base da teia trófica marinha, constituindo a principal fonte de alimento de muitos organismos. Porém, algumas espécies podem ser nocivas e causar danos a todo ecossistema marinho, inclusive ao homem que pode ser acometido pelas síndromes de envenenamento por moluscos ou peixes.

Moluscos bivalvos (mexilhões, ostras e vieiras) alimentam-se exclusivamente por filtração das partículas que encontram-se em suspensão na água, inclusive as microalgas marinhas, uma das suas principais fontes de alimento. Em zonas costeiras, locais de grande produtividade, a população local é fortemente dependente da atividade pesqueira (pesca e aqüicultura) praticada em uma variedade de locais (manguezais, estuários, costões rochosos, ilhas e ilhotas, dunas e praias), para obtenção de proteína animal. Deste modo, a ocorrência de microalgas potencialmente tóxicas e nocivas em águas costeiras destinadas a atividades de maricultura pode constituir um risco à saúde pública e para a economia local.

O aumento da participação da aquicultura (cultivo de organismos aquáticos) na produção de pescado em nível mundial, em grande parte, é devido à estagnação da pesca extrativista. Ao longo das últimas quatro décadas, as estatísticas mostram uma acentuada redução da atividade pesqueira proveniente da pesca extrativista e a ascensão da aqüicultura, que evidencia seu potencial para atender aos desafios da segurança alimentar, ou seja, poderá dispor da metade do pescado consumido pela população humana mundial, da geração de empregos e renda, principalmente em países em desenvolvimento. No ano de 2006, este segmento do setor pesqueiro foi responsável por 47% do pescado consumido no mundo gerando um consumo *per capita* de 7,8 kg.

No cenário brasileiro a aquicultura também encontra-se em plena ascensão, apresentando um crescimento médio anual de 21,1%, sendo o segmento da malacocultura (cultivo de moluscos) a segunda atividade mais expressiva da maricultura (cultivo de organismos marinhos) brasileira destacando-se na economia do país. O estado de Santa Catarina é o maior produtor nacional de moluscos bivalvos detendo 93% da produção no país.

No estado do Rio de Janeiro, a atividade vem se destacando através do cultivo de moluscos bivalvos (mexilhões, ostras e vieiras), principalmente em função da potencialidade do litoral fluminense para o seu desenvolvimento (áreas abrigadas, temperaturas amenas), do baixo custo de produção inicial, da padronização e fornecimento constante do produto e rentabilidade. No ano de 2006, a produção de bivalvos atingiu um volume de 29,5 toneladas e uma receita de R\$ 183.000,00. Na baía de Sepetiba, a produção de bivalvos compreende o cultivo de mexilhões da espécie *Perna perna* (LINNAEUS, 1758) e de vieiras *Nodipecten nodosus* (LINNAEUS, 1758). A produção média anual ainda é modesta, mas a atividade é de importante cunho social e econômico para a região porque é geradora de alimento e empregos, atuando na complementação da renda de pescadores artesanais contribuindo para a fixação das populações tradicionais em seus locais de origem.

No contexto brasileiro, o baixo custo para iniciar a produção levou a um grande crescimento da atividade, antes mesmo que houvesse tempo para regulamentação da maricultura no país. Como assegurar a qualidade sanitária dos bivalvos cultivados e extraídos de bancos naturais frente à problemática da contaminação de pescado por algas tóxicas e pelas ficotoxinas? Este risco é um problema que desafia todos os estados costeiros do mundo.

Nas últimas quatro décadas tem sido documentado um aumento no número de impactos negativos (à saúde pública, setor econômico e biota marinha) causados por espécies tóxicas e/ou nocivas, em especial as pertencentes ao grupo dos dinoflagelados (planctônicos e bentônicos). O número de espécies produtoras de toxinas e/ou formadoras de florações aumentou em distribuição, intensidade e frequência. Assim sendo, a ocorrência de dinoflagelados potencialmente tóxicos e/ou nocivos em águas costeiras destinadas a maricultura na baía de Sepetiba pode constituir um risco para a saúde pública e refletir impactos negativos na economia local (pesca e turismo) e no ambiente.

Segundo a Comissão Oceanográfica Intergovernamental (IOC) as áreas de produção que não são monitoradas para algas tóxicas e ficotoxinas devem ser consideradas de alto risco para a saúde pública. Ressaltando-se a necessidade de monitoramento das áreas de produção na baía de Sepetiba, visto que, as populações desses organismos apresentam variação tanto sazonal quanto interanual havendo a necessidade de salvaguardar a saúde pública e garantir a qualidade higiênico-sanitária do molusco comercializado na região.

Nas baías de Sepetiba e Ilha Grande e no litoral norte do Rio de Janeiro a ficotoxina diarréica ácido okadaico (AO) foi detectada em mexilhões de bancos naturais e de áreas de cultivo. A sua produção foi associada a algumas espécies de dinoflagelados planctônicos do gênero *Dinophysis*. No entanto, o papel de dinoflagelados bentônicos na produção de AO e de outras ficotoxinas de origem bentônica ainda é pouco estudado. O conhecimento da presença dessas espécies potencialmente tóxicas é vital para melhor compreender a sua real implicação na produção e transferência de toxinas na teia trófica costeira.

Atualmente, não existe um programa de monitoramento voltado para a detecção de dinoflagelados tóxicos epífitos. Estas espécies podem ser acidentalmente detectadas quando são ressuspensas para coluna d'água pela ação hidrodinâmica, sendo assim amostradas através do monitoramento da água para fitoplâncton. A identificação dos dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos em nível específico permitirá futuramente a investigação de outras ficotoxinas implicadas na intoxicação de humanos após o consumo de pescado contaminado. Em trabalho de dissertação anteriormente realizado por Ferreira (2004) dois morfotipos de *Prorocentrum* spp. foram tipados (*Prorocentrum* sp1 e sp2) e a identificação destes morfotipos poderá elucidar se estes organismos são potencialmente tóxicos, uma vez que, algumas espécies deste gênero, como *P. lima* e *P. concavum* estão implicadas na produção de toxinas diarréicas e ciguatéricas. Dessa maneira, o conhecimento gerado por esta pesquisa contribuirá para subsidiar um monitoramento direcionado para as espécies epibentônicas em áreas de maricultura no litoral sul do estado do Rio de Janeiro. Além de, em médio prazo, fornecer informações para a realização de estudos de avaliação de risco para ficotoxinas de origem bentônica, contribuindo para o desenvolvimento da maricultura responsável no estado do Rio de Janeiro sob a perspectiva de alimento seguro.

Ao longo da costa brasileira os relatos envolvendo florações de algas nocivas (FAN) e toxicidade de moluscos bivalvos intensificaram-se na última década. Na Baía de Sepetiba (RJ) alguns eventos tóxicos foram registrados relatando a presença de dinoflagelados potencialmente tóxicos, do gênero *Dinophysis*, e a contaminação de moluscos cultivados e extraídos de bancos naturais pela ficotoxina AO. A produção do AO foi associada a dinoflagelados planctônicos, porém, a potencial implicação de dinoflagelados bentônicos na produção de AO e de outras ficotoxinas para as águas da baía não é conhecido. No litoral Fluminense e no litoral nordestino, dinoflagelados epibentônicos estão sendo implicados em eventos de florações e na produção de ficotoxinas de origem bentônica causando impactos negativos no ecossistema da região.

Neste contexto, a presente pesquisa objetivou investigar a presença de dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos à saúde de consumidores de moluscos bivalvos em áreas destinadas a maricultura na baía de Sepetiba, litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar a presença de dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos à saúde de consumidores de moluscos bivalvos em área de cultivo e de extração natural de mexilhões na baía de Sepetiba, RJ, durante o período de um ano. Constituindo os estudos iniciais de identificação do perigo, representado pela ocorrência de tais dinoflagelados potencialmente tóxicos, gerando assim conhecimento científico que auxilie na elaboração de programa de monitoramento direcionado para a ocorrência destas espécies epibentônicas em áreas de mariculturas no litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e quantificar as espécies de dinoflagelados de interesse;
- Constatar relações entre as espécies de dinoflagelados bentônicos e sua ocorrência sobre as espécies de macroalgas para fins de monitoramento;
- Avaliar se há variação temporal (época do ano) e espacial (Guaíba e Marambaía) na distribuição dos dinoflagelados de interesse;
- Relacionar a ocorrência de dinoflagelados tóxicos aos fatores abióticos: temperatura, salinidade e profundidade de desaparecimento do disco de Secchi.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Moluscos Bivalvos

3.1.1 Taxonomia e aspectos gerais

Os bivalvos são animais exclusivamente aquáticos que podem viver em habitat altamente diversificado (água salgada, salobra ou doce). Estes organismos pertencem à classe Bivalvia, também chamada de Pelecypoda ou Lamellibranchia, a segunda maior classe do Filo Mollusca, compreendendo entre outros, espécies de importância comercial como os mexilhões, ostras e vieiras. Apresentam como características gerais o corpo e o pé lateralmente comprimidos e uma concha calcárea que envolve todo o corpo do animal (HELM et al., 2004).

Estes organismos são bentônicos, considerados sésseis embora sejam capazes de pequenos deslocamentos, vivendo principalmente fixos (através do bisso ou cimentação da valva) a substratos sólidos, principalmente em costões rochosos, geralmente na região entre-marés e início do infralitoral, formando densas populações. Algumas espécies vivem enterradas a substratos arenosos ou lodosos, enquanto outras, como os pectinídeos são capazes de nadar (LEAL, 2008).

Domínio Eukaria

Filo Mollusca

Classe Bivalvia

Ordem Mytiloidea

Família Mytilidae

Gêneros *Mytilus*, *Mytella* e *Perna*

Ordem Ostreoida

Família Ostreidae

Gêneros *Crassostrea*, *Ostrea*

Ordem Pteroida

Família Pectinidae

Gêneros *Pecten*, *Nodipecten*, *Argopecten*

3.1.2 Morfofisiologia

Os indivíduos que compõem esta Classe apresentam como principais características duas valvas articuladas (direita e esquerda) que podem ou não ser iguais e que revestem externamente o corpo do animal protegendo-o. Elas são constituídas de carbonato de cálcio e tem uma variedade de formas e cores, dependendo da espécie. As valvas estão unidas na região do umbo (parte anterior do animal) por uma estrutura conhecida como ligamento e, mantidas juntas por músculos adutores que estão presos à superfície interna da concha (Figura 01). As valvas são abertas pelo ligamento e fechadas por ação dos músculos adutores. Em sua superfície contém linhas de crescimento que representam as etapas de crescimento do animal. Essas linhas de crescimento são visíveis a olho nu e podem ser lisas e suaves (Mitilídeos) ou muito ásperas (Ostreídeos). A região oposta ao umbo é a posterior onde estão localizados os sifões inalante e exalante. Na região ventral está localizado o bisso. Essa estrutura está presente em muitas espécies e serve para a locomoção ou fixação do animal ao substrato (HELM et al., 2004; LEAL, 2008).

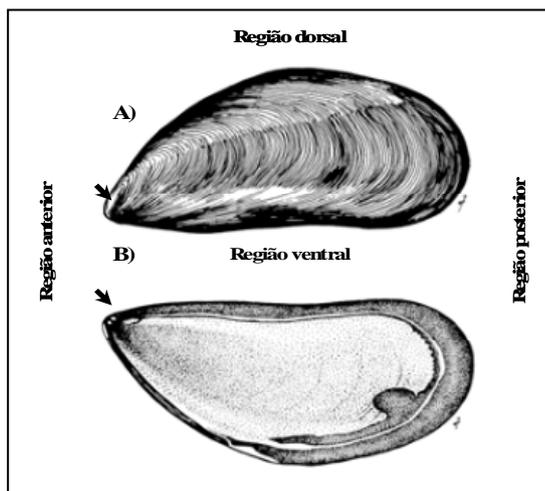


Figura 01. Valva direita do mexilhão *Mytilus edulis*. A) Aspecto externo, mostrando linhas de crescimento e umbo; B) Aspecto interno, mostrando borda interna do perióstraco, cicatriz do músculo adutor posterior e umbo (em destaque). Adaptado de documento da Internet FAO (2008). Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mytilus/en>>.

A cabeça é reduzida (Acephala) e não apresentam olhos, tentáculos e rádula como os outros moluscos, com exceção dos pectinídeos, que apresentam tentáculos e ocelos ao longo da margem do manto. A cavidade do manto está localizada ventralmente e lateralmente. O manto é uma camada de tecido que recobre todo corpo, exceto o músculo adutor, e tem diversas funções, como, por exemplo, secretar a concha e servir de base para o desenvolvimento de canais e folículos genitais, onde ocorre a gametogênese (Figura 02). A borda do manto é responsável pelo controle do fluxo de água que passa pelo interior do organismo (FERREIRA; MAGALHÃES 2003).

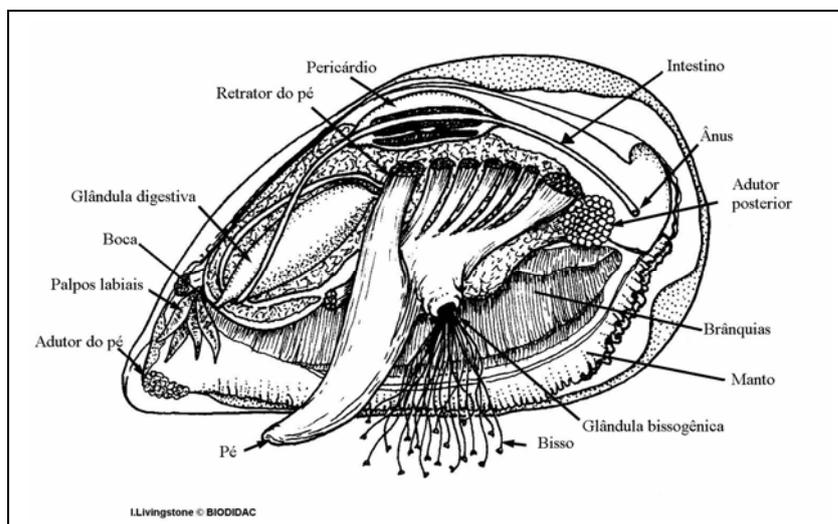


Figura 02. Anatomia interna de um mitílideo *Perna perna*. Corte em seção longitudinal. Visão em meia valva. Adaptado de: <<http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca/pe/profil/mussel-moule/mussel-moule-e.php>>.

A boca está localizada no interior do animal, na parte anterior, e um par de palpos labiais ajuda direcionar as partículas de alimento à boca após terem sido selecionados por tamanho pelas brânquias. A brânquia é um órgão que tem a função de realizar a troca gasosa e a triagem de partículas alimentares. O sistema de alimentação é por filtração da água que é

realizada através de sífilos, geralmente dois, o inalante (região posterior inferior) para aspirar a água carregada de matéria orgânica particulada, fitoplâncton e zooplâncton, e o exalante (região posterior superior) para expelir a água e as pseudofeces (partículas rejeitadas após a filtração) (FERREIRA; MAGALHÃES *op cit.*; LEAL, 2008).

A reprodução ocorre através da fecundação externa, feita livremente na água, e as espécies podem ser dióicas (mitilídeos) ou hermafroditas (pectinídeos). Apresentam uma ampla variedade de fases durante o desenvolvimento larvar: trocófora, véliger ou larva D, pedivéliger. Em seguida a larva sofre metamorfose e abandona o domínio planctônico indo fixar-se no domínio bentônico (FERREIRA; MAGALHÃES *op cit.*). O animal recém fixado até o comprimento de 2 - 3 cm é denominado semente e a partir de 5 cm adulto (IBAMA, 2006). Não há dimorfismo sexual externo, mas machos e fêmeas podem ser diferenciados após a abertura das conchas. A diferença de coloração dos animais sexualmente maduros caracteriza-se nos machos pelas gônadas de coloração branco-leitosa e nas fêmeas colorações vermelho-alaranjado (LEAL, 2008).

3.1.3. Moluscos na Alimentação Humana

Os mexilhões têm sido utilizados pelo homem como alimento desde os tempos mais remotos. Foram considerados por algumas culturas, como os gregos e romanos, um alimento nobre, uma verdadeira iguaria, que somente era servido em ocasiões muito importantes (FERREIRA; MAGALHÃES 2003).

No Brasil, os moluscos, especialmente os mexilhões, apresentam uma ampla distribuição geográfica ocorrendo em toda a costa Atlântica da América do Sul sendo explorado, cultivado e consumido, principalmente em regiões costeiras (AVELAR, 1998; FERREIRA; MAGALHÃES *op cit.*).

As populações litorâneas apreciam esse tipo de alimento sendo comum encontrar em bares, restaurantes, hotéis e pousadas pratos preparados com moluscos. No entanto, é necessário destacar que em nível nacional o consumo de mexilhões é baixo e parece está associado à falta de hábito dos brasileiros em comer frutos do mar e a forma simples de apresentação do produto, *in natura*, o que não potencializa o consumo. Em nosso país a comercialização de moluscos cultivados é feita basicamente na forma *in natura* (fresco na concha) ou pré-cozida e congelada (sem a concha) atendendo um mercado muito regional ou local e de forma sazonal. Apenas uma pequena parcela dos moluscos cultivados em Santa Catarina é comercializada em nível nacional (BEIRÃO et al., 2000).

3.1.3.1 Valor nutricional

Na literatura existem poucas pesquisas voltadas para o estudo da composição química do músculo de bivalvos (SIKORSKI et al., 1994; DONG, 2001; MAGALHÃES, 1985 apud FERREIRA; MAGALHÃES 2003;). Geralmente os estudos que abordam o valor nutricional ou a composição química de frutos do mar (peixes, crustáceos, moluscos) são voltados para o pescado como um todo. No entanto, os principais constituintes químicos (água, carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais) presentes no músculo do pescado podem variar a sua composição (%) em função da espécie (tanto intraespecificamente quanto interespecies), idade, sexo, tamanho, tipo de músculo, época do ano, habitat, temperatura, reprodução e alimentação (CONTRERAS-GUZMAN, 1994). Não se tem distinção entre espécies ou grupos dificultando o uso e a aplicação para o balanceamento de dietas e processamento industrial.

Os moluscos bivalvos (mexilhões, ostras e vieiras) são considerados alimentos de excelente valor nutricional para alimentação humana. A carne contém proteínas de alto valor biológico, baixo teor de gordura, vitaminas, minerais e carboidratos, principalmente na forma de glicogênio, sua principal forma de reserva energética (Quadro 01). Nos bivalvos os

constituintes químicos presentes no músculo podem mudar a sua composição principalmente em função do sexo e período reprodutivo (CONTRERAS-GUZMAN, 1994; FERREIRA; MAGALHÃES 2003).

Quadro 01: Composição bioquímica relativa (%) do mexilhão *Perna perna*.

Constituintes químicos	Peso fresco (%)
Água	83
Proteínas	10
Carboidratos	3,5
Lipídeos	1,5
Cinzas	2,0

Fonte: MAGALHÃES, 1985 *apud* FERREIRA; MAGALHÃES, 2003.

O valor nutritivo da carne de bivalvos se reflete nos teores de proteína e gordura. O teor de proteína bruta fica em torno de 10% apresentando em sua composição um teor de aminoácidos essenciais completo e balanceado contribuindo para o alto valor biológico da dieta. A carne apresenta um baixo teor de gordura (1,5%) e colesterol, e apenas cerca de 20 a 28 % de calorias, em que os ácidos graxos mais frequentes são os polinsaturados (40 – 45 g.100 g⁻¹ de porção comestível) e menos de 80 mg de colesterol.100 g⁻¹ de carne. Essa composição apresenta grandes vantagens nutricionais porque essa gordura polinsaturada é fonte de ácidos graxos benéficos ao organismo humano, da serie ômega-3 (eicosapentaenoico-EPA e α -linolênico) e ômega-6 (docosahexaenoico-DHA), além de assegurar uma melhor digestão e assimilação pelo organismo humano (DONG, 2001).

Os efeitos benéficos do EPA e do DHA podem ser citados por prevenir desordens cardíacas e inflamatórias, a aterosclerose e a trombose, além de agir na manutenção da pressão arterial, coagulação sanguínea, na formação de compostos que tem propriedades hormonais, no desenvolvimento e função do cérebro, retina e esperma. Por estas razões, a elaboração de pratos contendo moluscos pode ser considerada um alimento ideal para todos os tipos de dietas até mesmo para indivíduos que necessitem de uma dieta baixa em calorias (DONG, 2001).

3.1.4 A segurança de alimentos marinhos

No Brasil aborda-se o conceito de segurança alimentar sobre dois aspectos: acesso físico e econômico de todas as pessoas a alimentos básicos de qualidade e em quantidade suficientes; e a garantia de consumo de alimentos seguros (LEITE; PIETRAFFESA 2003; SANTOS, 2006). Dentro do contexto de segurança alimentar pode-se dizer que a segurança de alimentos marinhos está atrelada à condição destes serem úteis e inócuos à saúde humana. As condições de higiene são essenciais para garantia do consumo de alimentos seguros para a saúde do consumidor (SANTOS, 2006).

A inocuidade do pescado está relacionada à qualidade do ambiente em que ele vive podendo ser afetado por todas as alterações que nele ocorrem, principalmente devido à contaminação ambiental, já que a causa poluidora mais comum registrada no mundo inteiro é o lançamento de efluentes domésticos e industriais nos ecossistemas aquáticos (SOUSA, 2003). Embora moluscos bivalvos sejam alimentos nutritivos, também podem ser vetores de doenças em humanos por serem transmissores de patógenos (vírus, bactérias e protozoários), resíduos químicos e ficotoxinas, nocivos à saúde do homem (LENOCH, 2003; LOURENÇO et al., 2007a; LEAL; FRANCO 2008).

Os mexilhões, ostras e vieiras alimentam-se exclusivamente por filtração das partículas que encontram-se em suspensão na água acumulando nos seus tecidos as ficotoxinas. O acúmulo desses toxicantes no animal não afeta a sua saúde e muito menos

altera as suas características sensoriais (odor, cor, sabor e textura), um agravante para os consumidores regulares de moluscos, constituindo um perigo químico, e de ordem de saúde pública (FAO, 2004).

O aumento da produção de moluscos bivalvos cultivados ou extraídos de bancos naturais tem levado a um aumento dos relatos envolvendo a toxicidade de moluscos e a intoxicação de humanos por venenos de moluscos em todas as partes do mundo, inclusive no Brasil (PROENÇA et al., 1998; PROENÇA et al., 1999; SOUZA et al., 2003; FAO, 2004; OLIVEIRA, et al., 2005; TOYOFUKU, 2006; PROENÇA et al., 2007; ANDERSON et al., 2008).

Globalmente as ficotoxinas são consideradas um problema sanitário com repercussões nos setores da saúde, da economia, da sociedade e do meio ambiente (HALLEGRAEFF et al., 2003). As ficotoxinas são responsáveis por mais de 60 mil incidentes de intoxicações humanas em torno do mundo com algumas síndromes com incidência de casos fatais (por exemplo, uma taxa de mortalidade de 2% para envenenamento Ciguatera), principalmente devido ao consumo de peixes contaminado.

O consumo de bivalvos contaminados é passível de ser controlado através da implantação de um programa de monitoramento efetivo e constante que possa avaliar a qualidade da água (presença de espécies tóxicas) e dos bivalvos na área de cultivo antes que sejam liberados para o mercado (FAO, 2004). Na União Européia as Diretivas de 1991, 1997 e 2002 estabeleceram normas sanitárias detalhadas para a produção e comercialização dos bivalvos quanto à presença de ficotoxinas através do cálculo de um nível de referência que garanta proteção à saúde pública. Estes níveis de referência toxicológica (NOAEL - *No Observed Adverse Effect Level*; LOAEL - *Lowest Observed Adverse Effect Level*) foram obtidos através do estudo epidemiológico de surtos ocorridos em diversas partes do mundo, embora o número de surtos estudados seja ainda pequeno o que se reflete em uma base de dados epidemiológica restrita (TOYOFUKU, 2006).

No Brasil, a política sanitária direcionada a produção e venda dos bivalvos abordam as questões relacionadas à qualidade bacteriológica da água de cultivo e do produto final exposto a venda no mercado (ANVISA, 2001; CONAMA, 2005). Quanto à presença de ficotoxinas na carne de moluscos, no Brasil, as áreas de produção (cultivo e extração natural de bivalvos) não são monitoradas para a ocorrência de espécies tóxicas de dinoflagelados e nem para a detecção de ficotoxinas, exceto no estado de Santa Catarina, maior produtor nacional de bivalvos (PROENÇA; VILLAC 2003).

Em Santa Catarina o controle da sanidade aquícola é feito através da PORTARIA 021 da Secretaria de Desenvolvimento da Agricultura de 1º de outubro de 2002, onde foi estabelecido que a presença de toxinas paralíticas (envolvidas no Envenenamento Paralisante por Moluscos - EPM) e diarréicas (envolvidas no Envenenamento Diarréico por Moluscos - EDM) nos bivalvos é de notificação obrigatória, porém os limites toxicológicos permitidos para a comercialização do produto e as metodologias para análise (fitoplâncton e toxina) não foram abordados nessa Portaria (PROENÇA; VILLAC 2003).

No litoral sul do Rio de Janeiro as pesquisas desenvolvidas registraram a ocorrência de espécies planctônicas de dinoflagelados potencialmente tóxicos e a toxicidade de moluscos cultivados e em bancos naturais (OLIVEIRA, 2001; FERREIRA, 2004; LOURENÇO, 2004; MARINÉ, 2007; FERREIRA, 2009). O AO foi pioneiramente detectado em mexilhões capturados na baía de Sepetiba (OLIVEIRA et al., 2005). Em seguida foram identificadas cinco espécies de dinoflagelados planctônicos potencialmente produtores do AO em duas áreas distintas da baía (Ilhas Guaíba e Madeira) (FERREIRA et al., no prelo). Como a baía de Ilha Grande funciona acoplada à baía de Sepetiba, e possui 45 fazendas marinhas em suas águas, ampliou-se à pesquisa pelo AO e seus organismos produtores, onde o AO foi detectado, como também foi observado sua depuração natural em mexilhões cultivados

(LOURENÇO et al., 2007 a,b); MARINÉ et al. (2007) identificaram e quantificaram as microalgas implicadas na produção do AO em fazenda de maricultura. Observou-se variações na presença do AO de nanogramas à microgramas. grama⁻¹ de glândula digestiva de mexilhões. Estes estudos constituíram uma etapa descritiva da ocorrência da ficotoxina AO no litoral sul fluminense.

Tanto a produção de ficotoxinas quanto a ocorrência das microalgas produtoras variam espacial e temporalmente refletindo-se em uma grande variabilidade da toxidez nos moluscos. Ao se investigar tal variabilidade foi encontrada uma diferença sazonal na densidade celular de *D. acuminata* (associado à produção de AO) na ilha Guaíba e também na composição e dominância da comunidade de *Dinophysis* (FERREIRA, 2009). O verão tem sido a estação do ano mais favorável ao desenvolvimento de dinoflagelados epibentônicos na Ilha Guaíba, baía de Sepetiba (OLIVEIRA et al., 2008). Portanto o perigo da contaminação dos moluscos por ficotoxinas também pode exibir um padrão temporal em função da disponibilidade dos organismos produtores, fato que deve ser elucidado.

Em nível nacional, uma das medidas implementadas pelo governo federal através da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca da Presidência da República (SEAP/PR), atualmente Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA (lei 11958 de 26 de junho de 2009), foi à criação do Programa Nacional de Controle Higiênico e Sanitário de Moluscos Bivalvos (PNCMB) que prevê a criação de um programa de monitoramento da qualidade da água nas áreas de cultivo e a qualidade dos organismos cultivados para a presença de microrganismos, metais pesados e ficotoxinas proveniente de FAN's visando proteção à saúde do consumidor e à criação de mecanismos seguros para o comércio nacional e internacional (SEAP, 2005). O governo brasileiro junto ao MPA e outras instâncias governamentais vêm estimulando a expansão e a consolidação da atividade de forma racional. As políticas praticadas até o momento buscam fortalecimento do setor como cadeia produtiva. E o estabelecimento de normas sanitárias aplicáveis à produção e venda do produto *in natura* ou beneficiado ajudará o setor a se fortalecer como cadeia produtiva (SEAP, 2005).

3.1.5 Cadeia produtiva

Em muitas regiões do mundo a indústria da pesca apresenta potencial significativo para o fornecimento de proteínas para alimentação humana além de gerar divisas para o país através da exportação de produtos. O Brasil é um país expressivamente agrícola, e no contexto brasileiro, se destaca no agronegócio pela competitividade e pela exportação de produtos (FAO OVERVIEW, 2005; DIEGUES, 2006). A aquicultura no Brasil apresentou um salto de 15,5% em volume produzido superando o percentual médio de crescimento mundial (8,7%). Além disso, esse setor produtivo apresentou no cenário brasileiro crescimento superior à produção de bovinos (5,2%), suínos (3%) e aves (5%) segundo dados da FAO (2009) para o ano de 2004. A tendência de crescimento continua embora menos expressiva, com incremento de 3,2% para a maricultura e 6,4% para a aquicultura continental, considerando-se o ano de 2006 em relação a 2005. Em seu total a produção aquícola brasileira (9,6%) ainda supera a média mundial segundo o último relatório da produção de pescado realizado pelo IBAMA (2008).

No setor pesqueiro, a aquicultura destaca-se por sua importância econômica e social. No âmbito econômico essa atividade participou com 26,5% (270 milhões de toneladas) do volume total produzido pelo setor no ano de 2006, gerando uma renda de aproximadamente US\$ 970 milhões e no âmbito social a atividade é geradora de empregos diretos e indiretos, além de constituir fonte de renda complementar para pescadores (PEREIRA, 2007; IBAMA, 2008). Um segmento da aquicultura que se destaca no país é o da malacocultura (ou cultivo de moluscos), particularmente no cultivo de moluscos bivalvos, cuja produção está centrada nos

estados de Santa Catarina, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Rio de Janeiro (IBAMA, 2008).

A aquicultura, assim como a pesca, está representada em nível ministerial. O Governo federal através do MPA (antiga SEAP/PR), e em parceria com outros órgãos, é responsável pelos aspectos legais do cultivo envolvendo a concessão de áreas, licenciamento ambiental, introdução de novas tecnologias, fiscalização e fomento da atividade ajudando na organização e desenvolvimento do setor (SEAP, 2005).

A cadeia produtiva da malacocultura é formada pelos setores: fornecimento de insumos para a produção; setor de produção; beneficiamento ou transformação; comercialização; distribuição e consumo. O Estado é um dos principais agentes dessa cadeia produtiva. Cada setor está dinamicamente relacionado aos outros, realimentando continuamente toda a cadeia (*feedback*) com o objetivo comum de expandir e consolidar o mercado de pescado (SEAP, 2005).

Intervindo junto a cada um destes setores encontram-se órgãos públicos e privados de pesquisa e extensão que atuam, por exemplo, no repasse de novas tecnologias de cultivo, desenvolvimento de novos produtos e apoio aos maricultores. Na baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro, desde 1995 a Faculdade de Oceanografia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) atua no fomento da malacocultura através da avaliação do desenvolvimento dos animais e da otimização da produção com novas tecnologias (BASTOS et al., 2004). Desde 2006 o Laboratório de Toxinas Marinhas (ToxMar – DTA/IT/URFFJ) atua em parceria com a Associação de Maricultores de Mangaratiba e com a Secretaria de Agricultura, Meio Ambiente e Pesca (Prefeitura de Mangaratiba) através da realização de um monitoramento piloto do fitoplâncton potencialmente tóxico, da qualidade bacteriológica dos moluscos produzidos e da água do cultivo, além de orientar e conscientizar quanto a necessidade de implantação de boas práticas na aquicultura.

O setor de insumos é formado pelo segmento que fornece os suprimentos necessários para o desenvolvimento da atividade (redes, cabos de aço, bóias, energia (óleo diesel, elétrica), gelo, máquinas, transporte e etc.). O setor de produção constituído pelos maricultores com os cultivos de mexilhões, ostras e vieiras, ou seja, atuam como responsáveis pela obtenção da matéria prima. A obtenção de sementes para a mitilicultura é realizada pelos próprios maricultores principalmente através da coleta em bancos naturais seguindo as especificações da Instrução Normativa nº 105 (IBAMA, 2006) ou da captação de sementes no próprio cultivo. Porém sementes de ostras e vieiras, que são produzidas mediante reprodução assistida em laboratório, são consideradas um insumo, visto que não são obtidas diretamente pelo setor de produção. Por exemplo, o fornecimento de sementes de vieira *N. nodosus* no litoral do Rio de Janeiro é fornecida pelo Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía de Ilha Grande (IEDBIG).

O setor de beneficiamento é formado pelas indústrias e entrepostos (BEIRÃO et al., 2000). Porém, onde a maricultura encontra-se em escala artesanal este papel é desempenhado pelo próprio setor produtivo empregando mão-de-obra familiar no desconche, cozimento e acondicionamento do produto. Em sua maioria este setor ainda carece de um pólo industrial, e a falta de unidades de beneficiamento de moluscos faz com que o produto seja basicamente fornecido a população na sua forma *in natura*, o que não potencializa o consumo. As exceções são encontradas em Santa Catarina, onde a malacocultura já pode ser considerada em escala industrial. Há unidades de beneficiamento em operação abastecida por diversas associações de maricultores, o produto tem o Selo de Inspeção Federal - SIF (expedido pelo MAPA) que assegura a comercialização em todo o território nacional e há monitoramento da sanidade do animal e da qualidade do produto garantidas por programas de monitoramento desempenhado por instituições de pesquisa e órgãos governamentais.

O setor de distribuição é responsável por levar o produto aos diversos pontos de atacado no país; a comercialização que está encarregada de levar o produto até o consumidor. A falta de certificação do produto é um dos principais entraves para a comercialização destes no país, limitando essa comercialização a uma escala local ou regional. Na ponta final da cadeia produtiva está o consumidor o alvo a ser satisfeito (BEIRÃO et al., 2000).

O baixo custo de produção, a padronização e o fornecimento constante do produto, além de uma boa margem de lucro têm destacado a malacocultura, principalmente em relação à pesca de captura, tornando-a do ponto de vista do produtor e dos investidores um negócio muito lucrativo, resultando em aumento de produção, oferta de alimento, empregos, renda, além de tornar mais acessíveis os produtos aquícolas a população (SEAP, 2005; DIEGUES, 2006). O Brasil apresenta um grande potencial de mercado consumidor para absorver os produtos oriundos da aquicultura. O país possui 26 estados brasileiros e um Distrito Federal (DF), sendo que 15 destes são litorâneos, a população está estimada em mais de 180 milhões de habitantes onde cerca de 80% da população encontra-se em áreas urbanas, 22 % em áreas litorâneas e uma demanda muito grande por proteína animal. Portanto, possui um imenso mercado para os produtos provenientes da aquicultura (BOSCARDINI, 2008).

No Brasil o consumo desse tipo de alimento se dá principalmente na forma *in natura* e/ou cozida (BEIRÃO et al., 2000). Em países como a China, Espanha, Holanda e Nova Zelândia o cultivo industrial é um fato. E nestes países o consumo de moluscos industrializados é comum, principalmente na forma enlatada (conserva), com exceção da indústria neozelandesa, que também comercializa o mexilhão congelado na meia concha ou desconchado e congelado individualmente (*Individually Quality Frozen* - IQF). Além do aproveitamento de seus resíduos (as conchas) para fabricar botões, bijuterias e para fazer adubos e também na construção civil (HELM et al., 2004; FAO, 2009).

Desde a criação da SEAP (atual MPA) o setor pesqueiro vem passando por melhorias contínuas quanto à organização e desenvolvimento. E no que diz respeito a maricultura, a SEAP/PR junto ao governo federal, os Estados, autoridades municipais e outras instâncias de poder (Ministério do Meio Ambiente - MMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, Agência Nacional de Águas - ANA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, etc.) tem desenvolvido várias políticas através de programas que visam o desenvolvimento racional e conseqüentemente a sua expansão e consolidação em estados litorâneos brasileiros (FAO OVERVIEW, 2005).

A meta é aumentar a produção e conseqüentemente à disponibilidade de alimentos, gerar empregos, divisas, e contribuir para a fixação da comunidade caiçara em seu local de origem (SEAP, 2005). A FAO reconhece a aquicultura como uma das grandes promissoras para atender a segurança alimentar do planeta, especialmente devido a sua ascensão nas últimas quatro décadas contribuindo para o abastecimento de proteína de origem animal, de alta qualidade, no comércio mundial (FAO, 2006; FAO, 2009).

Uma das formas encontradas para o aperfeiçoamento do gerenciamento da maricultura pelo governo federal junto ao MPA foi a adoção de uma metodologia de planejamento local através de Planos Locais de Desenvolvimento da Maricultura (PLDM). O PLDM tem por objetivo planejar o desenvolvimento do setor utilizando ferramentas de micro zoneamento numa escala municipal ou através de iniciativas focadas mais localmente, ou seja, promover o planejamento para baías, lagoas, reservatórios e estuários (SEAP, 2005).

O PLDM inclui uma série de procedimentos e incentivos para promover a melhor localização de fazendas marinhas, elaboração de um estudo ambiental detalhado caracterizando a área de implantação e em suas adjacências. Somente após a caracterização do ambiente será identificada a forma de ocupação da área de abrangência conforme os múltiplos usos (pesca, turismo, navegação, lazer e etc.) (FAO OVERVIEW, 2005). Entretanto, o processo de licenciamento é considerado pelo aquicultor muito complexo e longo, cujos

principais entraves para o desenvolvimento e regulamentação da atividade estão relacionados à falta de articulação entre os principais órgãos envolvidos com a produção. O MPA e o IBAMA (tem função de licenciar juntamente com órgãos estaduais as fazendas de maricultura), a necessidade de consultar outras instâncias envolvidas para a autorização do uso da água, como a Marinha, ANA (libera o direito de uso dos recursos aquáticos), como também a autorização de uso do espaço costeiro que é fornecido pelo Serviço de Patrimônio da União – SPU, vinculado ao Ministério de Planejamento, além da falta de analistas ambientais dessas instituições para analisar detalhadamente o pedido de licenciamento dificultando o andamento do processo (FAO OVERVIEW *op cit.*; DIEGUES, 2006).

Hoje, o pedido de solicitação para uso dos espaços físicos em águas da União para fins de aquicultura é regido pela Instrução Normativa Interministerial N° 6 de 28 de maio de 2004. O MPA em acordo com vários ministérios conseguiu disciplinar todo o processo que é iniciado pelo seu Escritório Estadual que libera o Registro de Aquicultor ao interessado, recebe seu projeto e encaminha às várias instâncias (ANA, IBAMA, SPU) para a sua aprovação (FAO OVERVIEW, 2005).

3.2 Malacocultura

A aquicultura em escala comercial foi introduzida no mundo na década de 50, mas esta atividade pesqueira teve início há cerca de 4 mil anos atrás com o monocultivo da carpa na China e com o cultivo de macroalgas marinhas (BOSCARDIN, 2008). De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação – FAO, a produção de pescado constitui o maior segmento da produção agropecuária em nível mundial e o comércio internacional chega a movimentar por ano cerca de US\$ 70 bilhões (FAO, 2006). No ano de 2006 a produção de pescado mundial (pesca e aquicultura) alcançou valores referentes a 143,6 milhões de toneladas e desta quantia cerca de 110,4 milhões de toneladas foi destinado para o consumo humano direto (FAO, 2009).

O continente asiático e a região do Pacífico foram responsáveis por 89% da produção de pescado procedente da aquicultura e 77% da geração de receitas no ano de 2006. Na China 90% da produção de pescado foi proveniente da aquicultura e no *ranking* mundial este país lidera com um volume de produção de 34.4 milhões de toneladas (67%), gerando uma receita de US\$ 38.4 milhões (49%), e um consumo *per capita* de 29.4 ao ano (FAO, 2009).

O Chile foi o maior produtor aquícola da América do Sul apresentando um volume de produção de 802.4 milhões de toneladas.ano⁻¹ (FAO, 2006). O Brasil é o segundo país de maior importância aquícola da América Latina produzindo 271,6 mil toneladas por ano. No *ranking* mundial estabelecido pela FAO em 2009, o Brasil ocupou a 17^a posição em termos de volume produzido e o 13^o lugar em termos de valores.

Os organismos cultivados que apresentaram maiores destaque em termos de quantidade e valores produzidos em 2006 foram representados pelo grupo dos peixes, moluscos e crustáceos (FAO, 2009). O grupo dos peixes ocupou o primeiro lugar com 27,8 milhões de toneladas do total produzido e US\$ 29,5 milhões da receita gerada. Em segundo o grupo dos moluscos que representaram 14,1 milhões de toneladas (27%) e US\$ 11,9 milhões do valor total, e o grupo dos crustáceos em terceiro lugar com 4,5 milhões de toneladas produzidas, e com uma receita de US\$ 17,9 milhões do valor total (Figura 03). A participação dos três grupos correspondeu a mais da metade da produção aquícola mundial no ano de 2006 (FAO, 2009). Em termos de crescimento anual, a produção aquícola mundial está em plena ascensão, mais do que qualquer outro segmento envolvido na produção de alimentos. Para o período compreendido entre 1950 a 2006, a taxa de crescimento média anual foi de 7,0 % (FAO, 2009).

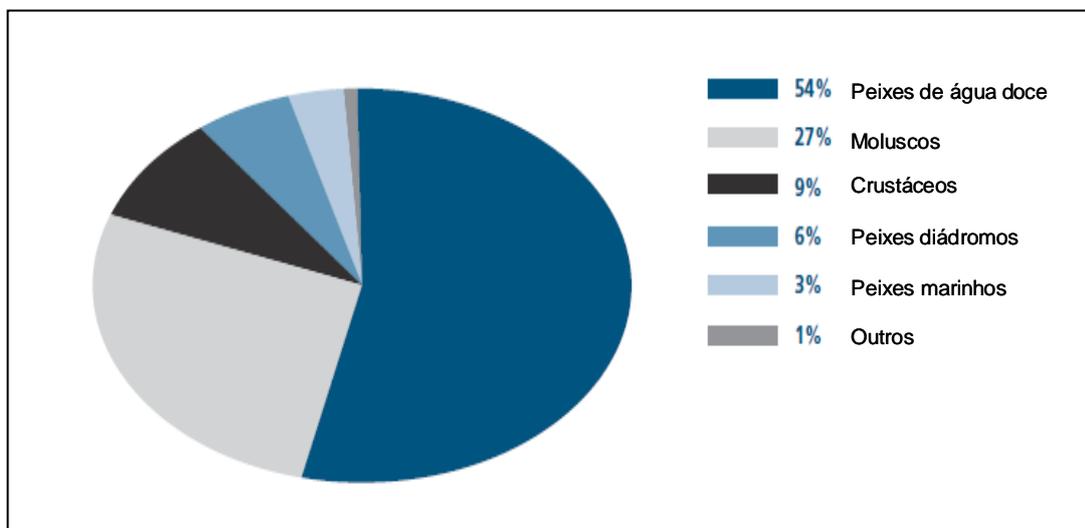


Figura 03. Percentual de produção mundial de organismos cultivados segundo volume produzido (FAO, 2009).

Malacocultura é o termo técnico utilizado para designar toda atividade de criação ou cultivo de moluscos marinhos para consumo humano. A atividade é praticada em áreas litorâneas protegidas e foi implantada no Brasil na década de 1960 (ARANA, 2004). A partir de 1989 esta atividade começou a representar de fato uma importante alternativa de emprego e renda, principalmente para pescadores do segmento artesanal, contribuindo para fixação destas comunidades tradicionais em seus locais de origem (BOSCARDIN, 2008).

Hoje, a malacocultura aguarda por uma revitalização do setor, para a sua consolidação e expansão. O setor ainda carece de um pólo industrial e o pequeno aquicultor está organizado através de cooperativas e associações, mas ainda não há mecanização da produção, todo trabalho é realizado manualmente, utilizando equipamentos e artefatos simples. Sendo necessária uma série de medidas e ações de apoio e de fomento pelo governo federal para que a atividade se consolide (SEAP, 2005).

No Brasil comercialmente são desenvolvidos os segmentos da Ostreicultura (criação de ostras), Míticultura (criação de mexilhões) e Pectinicultura (criação de vieiras) (BORGHETTI; BORGHETTI 2001; BORGHETTI et al., 2003; FERREIRA; MAGALHÃES, 2003). A região Sul e Sudeste lideraram o *ranking* nacional contribuindo com 14,7 mil toneladas e 754,5 toneladas da produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) em 2006, respectivamente. O estado de Santa Catarina foi o líder nacional seguido pelo Espírito Santo, São Paulo, Paraná, e Rio de Janeiro (IBAMA, 2008). Em 2006, o cultivo de mexilhões contribuiu com 15.512 toneladas da produção aquícola nacional, gerando uma receita de R\$ 23.434.500,00. O Sul do país foi responsável por 98% da produção total e o estado de Santa Catarina, o maior produtor de mexilhões da espécie *P. perna*, foi responsável por 97% da produção (11,6 mil t) neste mesmo ano. Na região Sudeste, os estados do Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro contribuíram com 754,5 toneladas (IBAMA, 2008).

As duas espécies de ostras cultivadas no litoral Sul e Sudeste são: a ostra do mangue, *C. rhizophorae* (GUILDING, 1828), espécie nativa do país e a ostra do Pacífico, *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1793), espécie introduzida. Assim como no cultivo de mexilhões, a região Sul também é responsável por 98% da produção total das duas espécies cultivadas, que totalizou 14.757 toneladas e R\$ 17.909.500,00 em termos de valores em 2006. O estado de

Santa Catarina novamente liderou a produção com 3.152,5 mil toneladas, seguido dos estados do Espírito Santo (365 t), Paraná (154 t), São Paulo (82,5 t) e Rio de Janeiro (3,0 toneladas) (IBAMA, 2008).

A pectinicultura está concentrada nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo. As espécies cultivadas em escala comercial são a *N. nodosus* e *Euvola ziczac* (LINNAEUS, 1758). A produção atingiu 15,5 toneladas e 0,5 toneladas nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo no ano de 2006, respectivamente (OSTRENSKY et al., 2008; IBAMA, 2008).

Na baía de Sepetiba a maricultura tem um importante cunho social e econômico (SCOTT, 1998). Os dois pontos investigados nesta pesquisa, a ilha Guaíba e a ponta da Marambaia são ambientes consteiros empregados para o cultivo de moluscos bivalvos com fins comerciais. A Ilha Guaíba possui uma área de 228,42 ha e 12.960 m de perímetro e nela está localizado o Porto de Guaíba, da companhia Minerações Brasileiras Reunidas (MBR), um terminal exportador de minério de ferro (SCOTT, 1998). Na ilha também funcionam duas fazendas marinhas: a da VALE (antiga MBR) que iniciou um trabalho de repovoamento da baía em 1996 cultivando pós-larvas de camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*, PÉREZ-FARFANTE, 1967) e posteriormente iniciaram os cultivos com mexilhões (*P. perna*), ostras (*C. gigas*) e vieiras (*N. nodosus*); e a AMAR que está em funcionamento desde 2005 cultivando principalmente mexilhões (*P. perna*) e vieiras (*N. nodosus*), com perspectivas para o cultivo de ostras (*C. gigas*). A fazenda encontra-se a 6,2 km de distância de Mangaratiba e atualmente cerca de 30 maricultores (na sua maioria mulheres) estão associados a AMAR. O volume produzido ainda é modesto, mas muito significativo (principal fonte de renda) para as famílias envolvidas na atividade. No ano de 2007 a produção foi de 6.630 kg de mexilhões (informação verbal)¹.

Desde 2007 um trabalho de parceria estabelecido entre a AMAR, a Secretaria de Agricultura e Meio Ambiente da Prefeitura Municipal de Mangaratiba (PMM) e a UFRRJ/ToxMar vem possibilitando o desenvolvimento de pesquisas focando a qualidade bacteriológica da água de cultivo e dos mexilhões comercializados pela AMAR, além do monitoramento de microalgas, principalmente dinoflagelados, potencialmente tóxicas na área de cultivo (PEREIRA, 2008; OLIVEIRA et al., 2008; FERREIRA, 2009).

A Ilha da Marambaia possui uma extensão de 42 km², e liga-se ao continente por uma faixa de areia de cerca de 40 km de extensão, a Restinga da Marambaia. Mas o seu acesso se dá principalmente pelo mar. O seu ponto culminante é o Pico da Marambaia com 647 metros de altura (SCOTT, 1998). A ilha é uma área de preservação ambiental que possui uma das últimas reservas de Mata Atlântica do sudeste brasileiro, formada basicamente de vegetação de restinga e de manguezais (MENEZES, et al., 2005). No final da década de 30 foi instalada na ilha uma escola modelo para pescadores que permaneceu ativada até 1971. Atualmente, as suas terras estão integradas a Área de Proteção Ambiental (APA) de Mangaratiba (Decreto Estadual N^o 9.802 de 12 de março de 1987), é ocupada por moradores remanescentes de quilombos que sobrevivem há mais de 100 anos da pesca extrativista. A ilha é administrada pela Marinha do Brasil que proíbe a caça, a pesca predatória, a extração de madeira e o turismo. Os únicos autorizados a utilizar esta área para as atividades de pesca são os moradores da ilha (PAIXÃO, 2008).

No costão rochoso da ilha, em Pescaria Velha, existe um importante banco natural de mexilhões (*P. perna*) que é explotado por catadores e marisqueiros da região. O molusco é vendido no mercado local e/ou usado para o sustento de suas famílias. Deste banco natural também são retiradas pelos maricultores da AMAR as sementes de mexilhões que são usadas para a confecção das cordas mexilhoneiras, havendo também a possibilidade de

¹ Notícia fornecida por Silvia Melo no XXI Encontro Brasileiro de Malocologia (EBRAM), no Rio de Janeiro, em julho de 2009.

abastecimento de outras fazendas da região segundo preconizado pela Instrução Normativa 105 do IBAMA (2006).

3.3 Ficotoxinas e a Tecnologia de Alimentos

As ficotoxinas são produtos naturais produzidos por microalgas nocivas sendo consideradas pelo *Codex Alimentarius* (2006) contaminantes naturais. Não são essenciais ao funcionamento da célula do dinoflagelado, porém, são produtos de um metabolismo secundário com função ecológica (proteção contra herbivoria, competição por nutrientes, mediação de reprodução sexuada) (DARANAS, 2001; GRANÉLI; TURNER 2006).

Classicamente as ficotoxinas eram classificadas com base nos sintomas clínicos causados, mas atualmente essa classificação tem sido feita com base na estrutura química da toxina devido ser mais apropriado para as propostas analíticas padronizadas pelo *Codex*. Os oito grupos formados são: o grupo dos azaspirácidos, grupo das brevetoxinas, grupo da iminas cíclicas, grupo do ácido domóico, grupo do ácido okadaico, grupo das pectenotoxinas, grupo das saxitoxinas, e grupo das yessotoxinas (TOYOFUKU, 2006).

No caso do pescado industrializado, a maioria dos produtos elaborados (conservas e defumados), passa por algum tipo de tratamento térmico durante o seu processamento para uma adequada conservação (maior vida útil de prateleira) e agregação de valor. Neste caso, as ficotoxinas apresentam potencial interesse na tecnologia de alimentos porque apresentam características químicas importantes: as ficotoxinas são quimicamente estáveis, ácido-base resistentes, lipofílicas ou hidrofílicas. Desse modo, essas substâncias não são desnaturadas ou destruídas pelo cozimento, vaporização, autoclavagem, refrigeração ou congelamento, salga, defumação ou secagem. Além disso, também não se pode afirmar com base nas características organolépticas do pescado se este é ou não tóxico (HUSS, 1997, FAO, 2004).

De acordo com dados publicados pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority* - EFSA) o efeito do processamento (tratamento térmico: cozimento, vaporização ou autoclavagem) sobre os níveis de toxinas lipofílicas, como o ácido okadaico e seus análogos, nos mexilhões levou a um aumento da concentração da toxina na carne do mexilhão devido à diminuição da quantidade de água no músculo durante o processamento. Os mexilhões quando foram expostos ao vapor apresentaram aumento nas concentrações da toxina entre 30 a 70%, e quando autoclavados apresentaram aumento da ordem de 70 a 84% a mais. A toxina também migrou da glândula digestiva (órgão onde está mais concentrada no molusco) para os demais tecidos durante o processamento. Isso indica que para fins de regulamentação seria mais indicado analisar todo o molusco, ao invés de apenas a glândula digestiva, principalmente quando este for submetido a algum tratamento térmico. Para um outro grupo de ficotoxinas, os azaspirácidos (AZA's), constatou-se que além do aumento da concentração da toxina na carne do molusco, também houve conversão ou transformação da toxina (AZA17 em AZA3) durante o tratamento térmico triplicando a sua concentração no molusco.

A partir do momento em que essas substâncias podem ser encontradas contaminando frutos do mar, mesmo após o seu processamento, constituem um perigo químico e um risco substancial a saúde humana. Isso torna necessária a adoção de medidas de controle específicas para prevenir as doenças de origem alimentar. Em vários países os níveis regulamentares são ajustados regionalmente ou nacionalmente, principalmente em função da disponibilidade de dados epidemiológicos, mas até o momento nenhum nível máximo regulamentar (Dose Diária de Ingestão) foi estabelecido como um todo (FAO, 2004).

Atualmente, o *Codex* estabelece normas alimentares que são aceitas em nível internacional. E os aspectos de segurança alimentar e de saúde foram estabelecidos a partir dos padrões do *Codex* com base na Avaliação de Risco executada por uma junta de consultores especialistas da Organização para Agricultura e Alimentação e Organização

Mundial de Saúde (FAO/OMS), e o gerenciamento do risco executado pelo Comitê do *Codex* sobre Peixes e Produtos da Pesca (CCFFP – *Codex Committee on Fish and Fishery Product*) (TOYOFUKU, 2006).

A partir da Avaliação de Risco (executada com base na identificação do perigo, na caracterização do perigo, avaliação da exposição e na caracterização do risco) foi possível estabelecer provisoriamente os níveis regulatórios adotados atualmente (Quadro 02) levando em consideração a situação em cada país. Isso porque os casos ocorridos normalmente envolvem o consumo ocasional e porque os dados toxicológicos disponíveis mostram estudos em curto prazo e efeitos agudos (DL₅₀), dificultando o estabelecimento e a adoção de uma Dose Aguda de Referência geral (DAR) e as Doses Diárias de Ingestão Toleráveis (DDIT). Deve-se levar em consideração o tamanho do fator de segurança ao avaliar a DAR ou as DDIT. Geralmente os valores padrões de 10 e 100 são usados baseados em dados humanos e animais, respectivamente. Um fator de segurança mais baixo entre 1 e 10 para dados humanos pode ser usado dependendo da magnitude e severidade dos efeitos da ficotoxina, da quantidade de informações disponíveis e a variedade da população incluindo dados humanos (TOYOFUKU, 2006).

Quadro 02. Dados utilizados no Cálculo da Dose Aguda de Referência para a ficotoxina diarréica ácido okadaico (e equivalentes) por pesquisadores *Ad hoc* da FAO/IOC/WHO para Biotoxinas Marinhas (UNESCO, 2005) comparado ao recomendado pela *European Food Safety Authority* e aos dados epidemiológicos utilizados no *Codex Alimentarius* (ALEXANDER et al., 2008).

Dados	NOAEL ^a	LOAEL ^a	Dose Aguda de Referência (Provisória)	Nível Máximo (Consumo)
Japão	-	1,2-1,6	-	0,16mg. kg ⁻¹
Noruega	-	1-1,5	-	
<i>Codex</i>	1	1	0,33µg.kg de peso corpóreo ⁻¹	
EFSA	-	0,8	0,3µg.kg de peso corpóreo ⁻¹	

^a Por quilograma de peso corpóreo.

As medidas de controle normalmente estão associadas ao monitoramento da toxicidade do molusco. Diferentes métodos de detecção de ficotoxinas no tecido de mexilhões vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de prevenir a chegada de pescado tóxico ao consumidor. Esses métodos permitem detectar a presença desses toxicantes a nível muito baixo do que se considera um risco a saúde humana contribuindo para a redução do número de intoxicações alimentares, principalmente onde este tipo de contaminação do pescado é um problema (FERNÁNDEZ et al., 2002).

Os métodos de determinação podem ser classificados em métodos de ensaio ou métodos analíticos (FAO, 2004). Os ensaios proporcionam um valor do conteúdo total da toxina baseando-se na mediação de uma única resposta: a biológica ou a bioquímica, que engloba a atividade de todos os congêneres presentes na amostra. Onde a toxicidade é determinada em função de uma curva dose-resposta e a concentração da toxina é expressa em equivalente-grama (eqg) (FERNÁNDEZ et al., *op cit.*). No método analítico se realiza uma separação, identificação e quantificação individual das toxinas em função de uma resposta instrumental que é proporcional à concentração de cada uma das toxinas presentes na amostra. Porém, a utilização de métodos analíticos requer a calibração do equipamento com padrões de concentração conhecida de cada uma das ficotoxinas envolvidas no estudo (FERNÁNDEZ et al., *op cit.*).

Países que adotam um programa de controle de ficotoxinas em frutos do mar são baseados em ensaios *in vivo* (FAO, 2004). O método normativo empregado é o bioensaio utilizando camundongos. Este método é de grande valor para os programas de controle

sanitário e para a proteção à saúde humana porque estuda a resposta de um ser vivo. Desse modo, têm demonstrado a sua eficácia na proteção da saúde pública ao colocar em evidência os alimentos não aptos para o consumo (FERNÁNDEZ et al., 2002). Porém, este método, apresenta baixa sensibilidade e especificidade, baixa reprodutibilidade interlaboratorial, é semiquantitativo e requer a manutenção de grandes colônias de camundongos e o sacrifício dos mesmos o que acaba levando a algumas dificuldades éticas com a sociedade protetora dos animais (FERNÁNDEZ et al., *op cit.*; FAO, 2004).

Alguns países têm adotado regulamentações que limitam ou proíbem o uso de animais de laboratório. Contudo, o impacto socioeconômico dos eventos tóxicos tem levado ao desenvolvimento de ensaios alternativos (ensaios “*in vitro*” bioquímicos e biológicos) para a detecção e quantificação das ficotoxinas, reduzindo o número de animais nos programas de controle dos alimentos (FAO, 2004). Atualmente, a aplicação destes ensaios em laboratórios de controle sanitário não vem sendo realizada por falta de uma validação formal através de protocolos internacionais reconhecidos pelo AOAC (*Association of Official Analytical Chemistry*) (FAO, 2004).

Entre as técnicas analíticas a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) vem sendo empregada para a identificação e a quantificação das ficotoxinas (LAGOS, 2002). Esta técnica é altamente sensível, precisa e reprodutível permitindo obter informações sobre a composição quali-quantitativa do tóxico (FAO, 2004). É amplamente usada na separação, purificação e isolamento de qualquer tipo de substância (produtos naturais, fármacos, compostos químicos e bioquímicos e todos os tipos de toxinas) e existe uma variedade de detectores (visível, ultravioleta, fluorescência, condutividade, índice de refração, massa e etc.). Outros métodos analíticos empregados para a detecção de ficotoxinas podem ser citados, como a Ressonância Magnética Nuclear (NMR) e a Capilaridade de Zona Eletroforese (CZE) (FAO, 2004).

3.4 Avaliação de Risco

A análise de risco constitui uma importante ferramenta reconhecida pelo *Codex alimentarius* para garantir a segurança do alimento. Essa análise preconiza a obtenção de dados a respeito dos perigos existentes no alimento para que sejam tomadas as medidas cabíveis a fim de evitar os efeitos adversos dos agentes contaminantes ao longo de toda cadeia de produção (CODEX ALIMENTARIUS, 2006). A análise de risco compreende três etapas: a avaliação, o gerenciamento e a comunicação do risco. A avaliação de risco é realizada mediante a identificação e caracterização do perigo, da avaliação da exposição e da caracterização do risco (FREMY; BORDET 2002).

3.4.1 Identificação do perigo

A identificação do perigo é realizada pela observação e definição dos tipos de efeitos adversos causados a saúde humana quando associado à exposição do agente contaminante (FREMY; BORDET 2002). No caso das ficotoxinas o objetivo é identificar as espécies tóxicas de dinoflagelados (Quadro 03) e a possível ocorrência de toxicantes no pescado levando aos sintomas da doença. Por exemplo, as substâncias produzidas pelos dinoflagelados tóxicos, os ocadaïatos, ciguatoxinas e as maitotoxinas, causam um efeito nocivo à saúde humana cujos principais sintomas clínicos são distúrbios gastrointestinais, neurológicos e cardiovasculares (TOYOFUKU, 2006). Geralmente estas informações podem ser obtidas de dados de pesquisa científica envolvendo principalmente resultados de estudos epidemiológicos (FAO, 2004).

Quadro 03. Espécies de dinoflagelados toxigênicas e toxinas produzidas em águas marinhas tropicais e subtropicais

Dinoflagelados	Efeito Nocivo	Referência
<i>Coolia monotis</i>	Cooliatoxina	HOLMES et al. (1995) RHODES; THOMAS (1997)
<i>Gambierdiscus toxicus</i>	Ciguatoxinas e Maitotoxinas	MURATA et al. (1993) YASUMOTO; SATAKE (1996)
<i>Ostreopsis lenticularis</i>	Ostreotoxina 1 e 3 (neurotoxina, análogo de PTX)	TINDALL et al. (1990) LENOIR et al. (2004)
<i>O. mascarenensis</i>	Mascarenotoxina A e B (composto poliéter, análogo de PTX)	QUOD (1994) LENOIR et al (2004)
<i>O. ovata</i>	Composto butanólico solúvel (análogo de PTX)	NAKAGIMA et al. (1981) LENOIR et al. (2004)
<i>O. siamensis</i>	Ostreocina D (análogo de PTX)	USAMI et al. (1995) ONUMA et al. (1999) LENOIR et al. (2004)
<i>Prorocentrum arenarium</i>	AO (caudador de DSP)	FAUST (1994) TEN-HAGE et al. (2000)
<i>P. balticum</i>	Formador de floração tóxica	STEINDINGER; TANGEN (1979, 1997)
<i>P. concavum</i>	AO, DTX, toxinas FAT	TINDALL et al. (1984, 1989) DICKEY et al. (1990) HU et al. (1993) QUOD et al. (1995)
<i>P. emarginatum</i>	Atividade hemolítica e fibroblástica (?)	FAUST (1990) MORTON et al. (2000)
<i>P. gracile</i> (Sinônimo= <i>P. sigmoides</i>)	Não é tóxico	STEINDINGER; TANGEN (1993) COHEN-FERNANDEZ et al. (2006)
<i>P. lima</i>	AO, DTX-1, DTX-2 e DTX-4 e Prorocentrolides e toxinas FAT	MURAKAMI et al. (1982) TINDAL et al. (1984) TORIGOE et al. (1988) LEE et al. (1989) HU et al. (1993) DELGADO et al. (2006)
<i>P. mexicanum</i>	Toxinas FAT	TINDAL et al. (1984) STEINDINGER (1983)
<i>P. micans</i>	Formador de floração nociva	ANDERSON et al. (1985) GRANELI et al. (1990) COHEN-FERNANDEZ et al. (2006)

3.4.1.1 Ocadaiatos

A ficotoxina diarréica mais amplamente distribuída e estudada é o ácido okadaico. É a principal toxina promotora do Envenenamento Diarréico por Moluscos (EDM). Sua constituição bioquímica é a de um ácido graxo, poliéter de cadeia linear (Figura 04), com peso molecular de 804,4661 e fórmula $C_{44}H_{71}O_{13}$ (QUILLIAM; WRIGHT 1995). As toxinas diarréicas são poliésteres lipossolúveis e termoestáveis cujas principais toxinas são o ácido okadaico (AO) e as dinophysistoxinas (DTXs). O método normativo é o bioensaio utilizando camundongos (FAO, 2004). A ação tóxica dos ocadaiatos, verificada em ensaios biológicos e citológicos, é classificada em: genotóxica (SILVA et al., 2001), carcinogênica (SUEOKA;

FUJIKI 1997), neurotóxica (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 1998) e citotóxica (HUYNH et al., 1997).

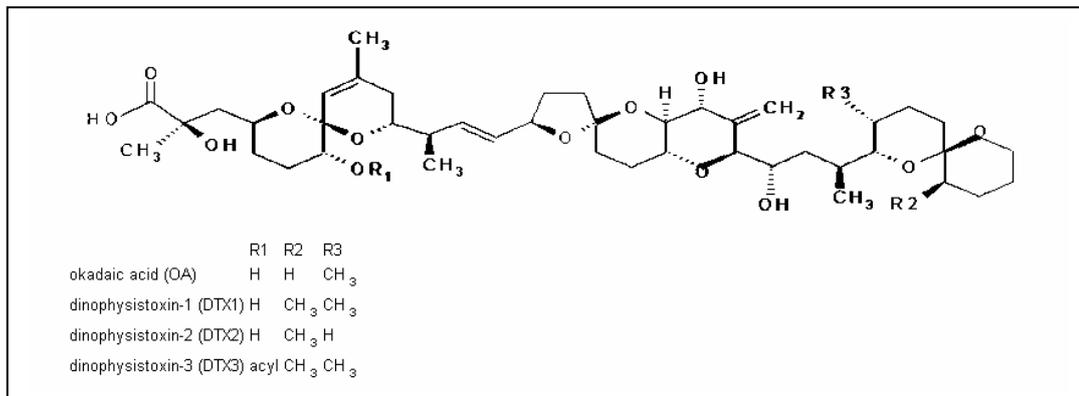


Figura 04. Estrutura química do ácido okadaico e dinophysistoxinas. Modificado de FAO (2004).

Variando-se os três radicais encontrados na molécula do AO (com hidrogênio e metil) obtém-se as toxinas derivadas: as dinophysistoxinas 1 e 2. Que diferem apenas em propriedades químicas (peso molecular, tempo de retenção), mas não no modo de ação tóxico (FAO, 2004). Para obter-se o derivado DTX-3 a molécula do AO sofre adição de um radical acyl no sítio 1 (VALE; SAMPAYO 2002a).

Todos os ocadaiatos são termoestáveis, ácido-base resistentes (não são inativados pelo pH ácido da barreira estomacal, nem alcalino do intestino) (FAO, 2004). O cozimento de moluscos apenas apresenta o efeito de concentrar as toxinas presentes devido a perda de água que a carne do molusco sofre durante a cocção (QUALFOOD, 2009). Outro efeito do cozimento é a migração das toxinas nos tecidos do animal: na carne *in natura* concentrava-se na glândula digestiva e na carne cozida foi redistribuída nos demais tecidos, permanecendo apenas 9% de toxina na glândula digestiva do mexilhão *M. edulis* (LINNAEUS, 1758). As toxinas diarréicas somente foram inativadas em altas temperaturas (QUALFOOD, 2009), no entanto, essa matéria prima (moluscos bivalvos) quando submetida a temperaturas elevadas tornam-se impalatáveis e perdem seu valor nutricional.

Toxinas homólogas ao ácido okadaico (DTX-1,2) podem ser biotransformadas em DTX-3, por ação enzimática na glândula digestiva de moluscos. A conversão dá-se por acilação e esses compostos acumulam-se preferencialmente em vieiras. Esse tipo de toxina diarréica metabolizada (DTX-3) predomina no Japão, derivada da ficotoxina DTX-1 produzida por *Dinophysis fortii* (VALE; SAMPAYO 2002a).

Em mexilhões há predominância da presença de ocadaiatos em sua forma livre (MOROÑO et al., 2003). Há relatos demonstrando que a vieira *Patinopecten yessoensis* (JAY, 1856) (SUZUKI et al., 2005), o bivalvo *Solen marginatus* (PENNAT, 1777) (VALE; SAMPAYO, 2002b), caranguejos (TORGENSEN et al., 2005; VALE; SAMPAYO, 2002b) apresentam a capacidade de realizar a biotransformação de AO e DTX-1,2 em DTX-3. Não há informações à respeito de biotransformação para as espécies nativas da costa brasileira.

A ficotoxina diarréica, ácido okadaico, encontra-se amplamente distribuída nos mares de todo o planeta (VALE; SAMPAYO 2002a). Os organismos causadores da síndrome diarréica pertencem ao grupo dos dinoflagelados pelágicos e bentônicos dos gêneros *Dinophysis* (Figura 05) e *Prorocentrum* (Figura 06), respectivamente. Estes organismos são comuns em águas brasileiras (DARANAS, 2001).

Geralmente DTX-1 ocorre em baixas concentrações na Europa, onde o ácido okadaico é a toxina diarréica predominante, exceto na Noruega (CARMODY et al., 1996). Na Irlanda a toxina predominante é a DTX-2, com *D. acuta* produzindo também AO em menores

concentrações (JAMES et al., 1997). Na Galícia, Espanha, Bravo et al. (2001) relataram *Prorocentrum lima* produzindo DTX-1 nas mesmas proporções que o AO (AO:DTX-1 de 12,9pg. célula⁻¹ e 12,4pg. célula⁻¹, respectivamente), porém os eventos de DSP são produzidos por *Dinophysis* spp. com predomínio das toxinas AO (com *D. acuminata*) e DTX-2. No mar Adriático AO e DTX-1 são as principais toxinas diarreicas causadoras de DSP (PAVELA-VRANIC et al., 2002).

No Canadá DTX-1 é a toxina predominante produzida por *Prorocentrum lima*, capaz de sintetizar também AO nas mesmas proporções (BRAVO et al., 2001). Na costa oeste dos Estados Unidos o AO é a principal toxina diarreica produzida em baixas concentrações, associada a dinoflagelados epibentônicos, principalmente *P. lima* (MARANDA et al., 2007). Para o cone sulamericano encontramos o AO como principal toxina, acompanhado por DTX-1,2,3 no Chile (GARCIA et al., 2004). Recentemente também há o relato da ocorrência de PTX-2 no Chile produzida por *D. acuminata* (BLANCO et al., 2007b).

Na China o AO também é a toxina diarreica mais importante ao longo de todo o ano (MAK et al., 2005), sendo que na Austrália o AO é acompanhado, em menor escala, pela pectenotoxina-2 (MADIGAN et al., 2006). O primeiro relato da presença de ficotoxinas na Rússia revelou a predominância de AO, e em menores proporções a presença de DTX-1, PTX's e YTX's (VERSHININ et al., 2006).

Em águas brasileiras até o presente momento há relatos de ocorrência do AO em Santa Catarina (SCHMITT; PROENÇA, 2000), no litoral do Rio de Janeiro (OLIVEIRA, 2001; FERREIRA, 2004; LOURENÇO et al., 2007; MARINÉ, 2007) e em Recife (SOUZA et al., 2007). Ressalta-se a necessidade de maiores investigações da presença de outras toxinas lipofílicas no litoral sul fluminense, principalmente DTX-1 e as de origem bentônica, devido a ocorrência de dinoflagelados potencialmente tóxicos na região (FERREIRA, 2004; OLIVEIRA et al., 2008). Ainda não há estudos sobre o perfil toxigênico expresso pelas espécies de *Dinophysis* que ocorrem no litoral brasileiro. No litoral sul do estado do RJ a pesquisa na linha de ficotoxinas ainda permanece em uma etapa descritiva, que necessita ser fomentada e ampliada a toda costa, principalmente onde há parques de maricultura.

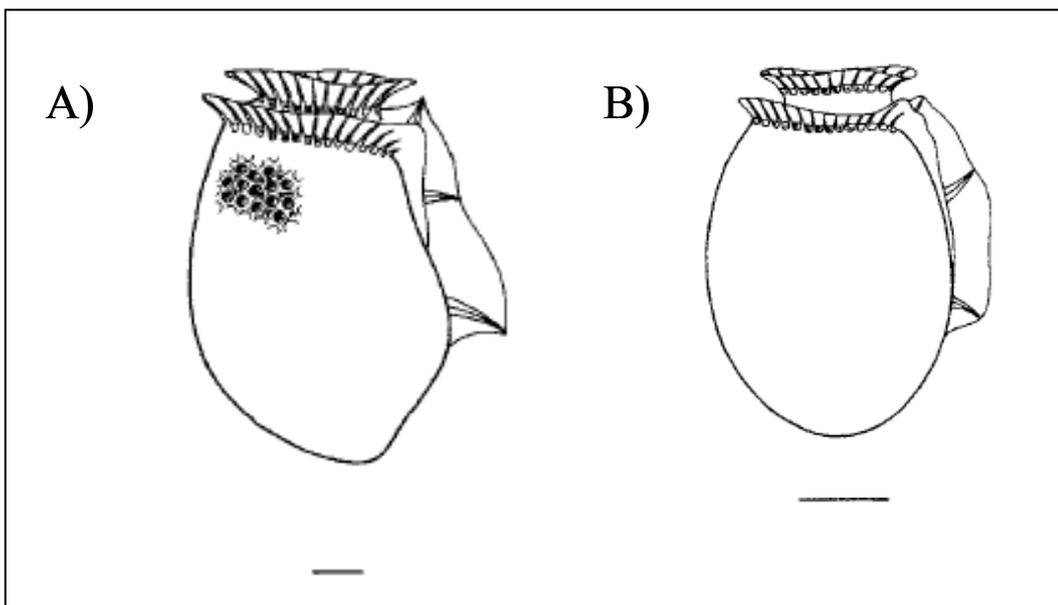


Figura 05. Dinoflagelados planctônicos do gênero *Dinophysis*. Implicados no Envenenamento Diarreico por Moluscos. A) *D. acuta*, espécie tipo do gênero; B) *D. acuminata* espécie mais abundante e frequente na Baía de Sepetiba, RJ. Barra = 10 µm. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

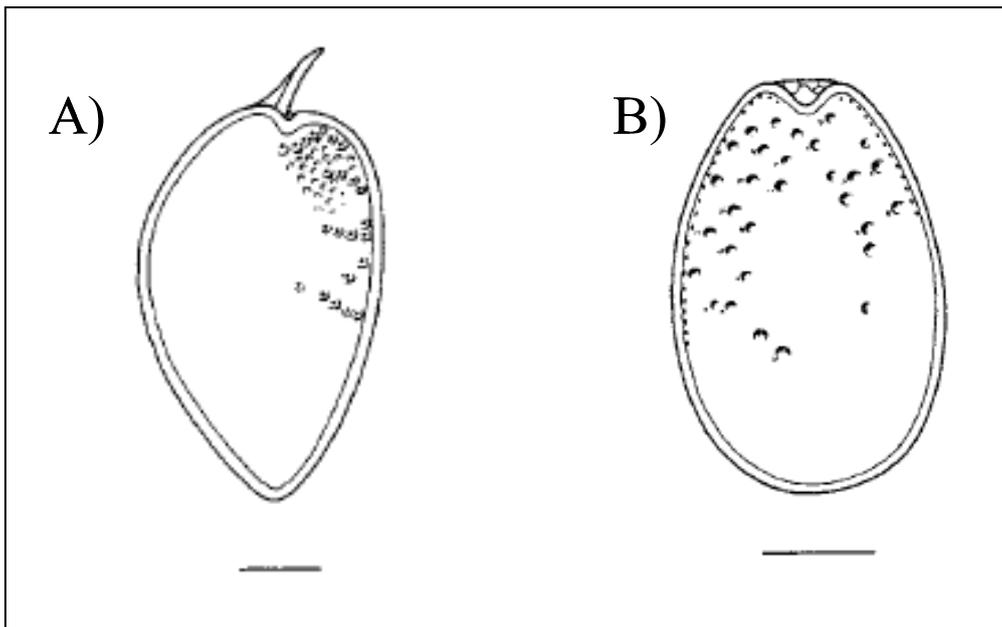


Figura 06. Dinoflagelados bentônicos do gênero *Prorocentrum*. A) *P. micans* espécie tipo deste gênero. B) *P. lima* espécie implicada no Envenenamento Diarréico por Moluscos e Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 μ m. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

3.4.1.2 Ciguatoxinas e Maitotoxinas

As ciguatoxinas são substâncias poliéteres cíclicas (Figura 07), lipossolúveis cuja fórmula molecular é $C_{60}H_{86}NO_{19}$, pesando 1111.7Da. São inertes ao calor, mesmo após o cozimento. Permanecem estáveis após o congelamento e as condições ácidas e básicas. Acumula-se no músculo e vísceras de peixes que apresentam aparência normal, até mesmo o gosto e olfato (LEHANE; LEWIS 2000).

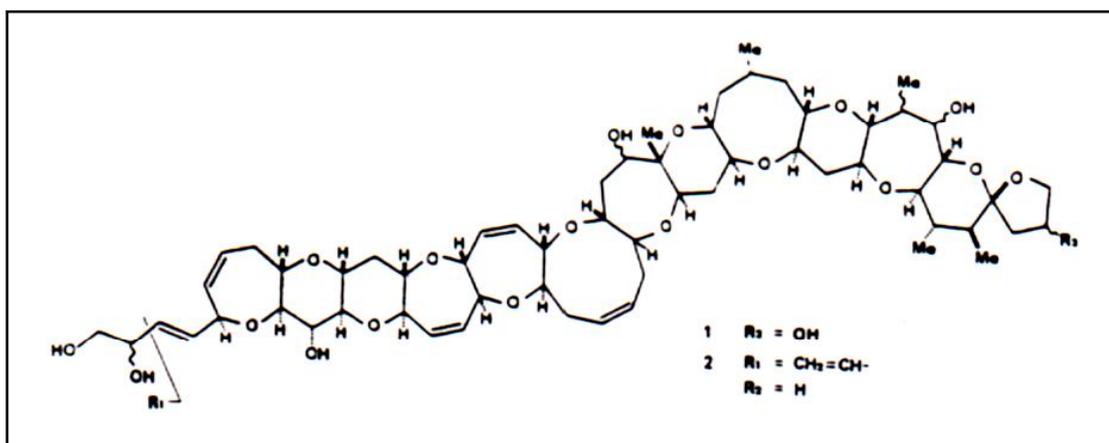


Figura 07. Estrutura química da Ciguatoxina e seus análogos. Modificada de FAO (2004).

As estruturas das ciguatoxinas (CTX-1, CTX-2 e CTX-3) são conhecidas somente para peixes do Oceano Pacífico. Cerca de 20 congêneres CTX foram caracterizados estruturalmente onde três classes já foram diferenciadas com base na estrutura poliéter. Os análogos, CTX-1, CTX-2, CTX-3 e gambiertoxinas-4B (GTX-4B) são as principais toxinas causadoras da ciguatera no Oceano Pacífico e pertence à classe tipo 1A (LEWIS et al., 1991;

LEWIS; SELLIN, 1992). Este grupo possui uma estrutura molecular de 60 carbonos e 13 anéis éteres fusionados (VAN DOLAH, 2002).

A CTX-1 é a forma mais potente e a mais encontrada em peixes carnívoros (FAO, 2004). Porém, mais do que uma estrutura pode estar presente no músculo do peixe, o que pode contribuir para a variabilidade dos sintomas em humanos. As CTX-1 são responsáveis por mais de 90% das deflagrações ocorridas no Pacífico, e a intoxicação ocorre em concentrações de $0,1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de músculo de peixes carnívoros (LEHANE, 1999). Os congêneres das ciguatoxinas tipo 2A (CTX-2A1; CTX-3C) possuem 57 carbonos em 13 anéis éteres fusionados (VAN DOLAH, *op cit.*).

As ciguatoxinas do Caribe (C-CTX-1) são menos polares e dez vezes menos tóxica do que as ciguatoxinas do Pacífico. Estudos epidemiológicos sugerem que as ciguatoxinas do oceano Índico e Caribe podem ser diferentes das ciguatoxinas do Pacífico. Os sintomas gastrointestinais são mais predominantes no Caribe do que os sintomas neurológicos ocorridos no Pacífico. E a incidência de casos relatados envolvendo fatalidades é mais comum no oceano Índico do que no Pacífico (LEWIS et al., 1988 apud LEHANE; LEWIS, 2000).

A letalidade envolvendo camundongos para as toxinas do Pacífico é de DL_{50} (i.p) $0,45 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de músculo de peixes segundo Tachibana (1981) e de $0,25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de músculo de peixes para Lewis (1991). Enquanto que para as toxinas do Caribe a DL_{50} é dez vezes mais baixa, com uma DL_{50} (i.p) de $3,6 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de músculo de peixes (LEWIS et al., 1991). Concentrações maiores que $0,1$ ppb de P-CTX-1 causam o efeito tóxico no homem, já as C-CTX-1 é necessário concentrações maiores que $1,0$ ppb (VAN DOLAH, *op cit.*).

As C-CTX-1 apresentam 52 carbonos e 13 anéis éteres fusionados. Dos congêneres isolados a forma mais abundante é as C-CTX-1. Dependendo do grau de contaminação o peixe poderá apresentar de $0,1$ a $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ na carne (VAN DOLAH, *op. cit.*).

As Maitotoxinas (MTX) são poliéteres cíclicos (Figura 08), assim como as GTX e CTX. O tipo de MTX produzida depende da cepa de *G. toxicus*. Cada cepa parece produzir somente um tipo de toxina (LEHANE, 1999). As MTX são hidrossolúveis, porém podem ser solúveis em alguns solventes orgânicos. É uma molécula grande de 3424Da e 32 anéis, e são menos letais do que as CTX. A letalidade em camundongos (rota inespecífica) foi de $0,13 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de músculo de peixes (BRUSLÉ, 1997 apud LEHANE, 1999). É encontrada no fígado e vísceras de peixes herbívoros. Nos peixes carnívoros é encontrada somente no fígado e as concentrações acumuladas não são suficientemente altas para desencadear a intoxicação em humanos (LEWIS, 1991).

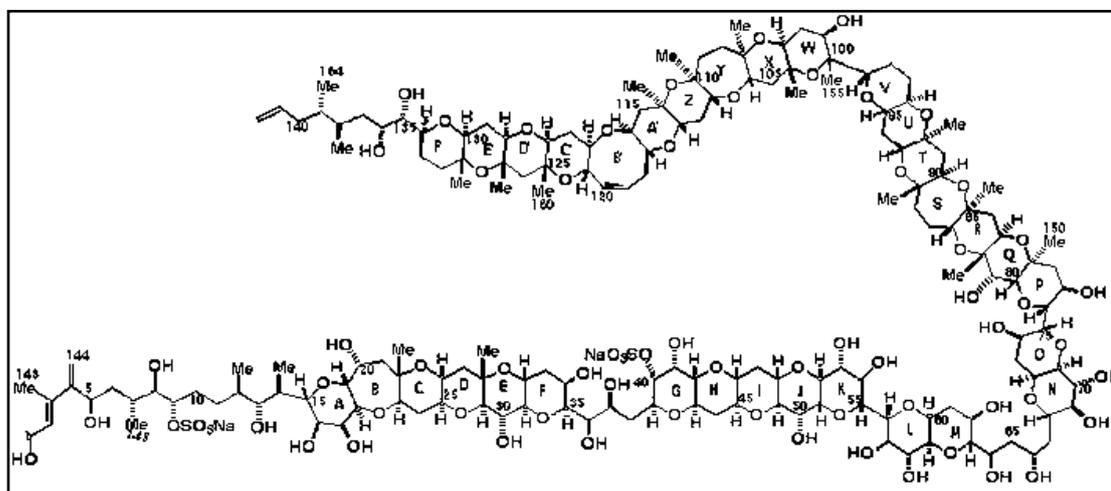


Figura 08. Estrutura química da Maitotoxina. Modificada de FAO 2004.

Definir o Envenenamento Ciguatera por Pescado (CFP) é muito complexo porque o principal agente contaminante, o *Gambierdiscus toxicus*, é membro de uma comunidade muito diversa em dinoflagelados tóxicos e epífitos, muitos dos quais são produtores de ficotoxinas (YASUMOTO et al., 1980; YASUMOTO et al., 1987). A subestimação de dinoflagelados tóxicos associados com eventos tóxicos pode ser devida, em grande parte, a falta de amostragem de comunidades bentônicas e epífitas. As ficotoxinas produzidas por dinoflagelados epibentônicos incluem os análogos da palitoxina, cooliatoxina, anfidinóis, compostos com ação hemolítica e ciguatoxinas (FODEN et al., 2005; CORRÊA et al., 2007).

As principais toxinas da ciguatera são as ciguatoxinas e as maitotoxinas (LEWIS, 1992; LEHANE; LEWIS 2000). As ciguatoxinas surgem da biotransformação nos peixes dos seus precursores, as gambiertoxinas (GTX-4B). Elas se tornam mais polar quando passam por um metabolismo oxidativo à medida que sobe na teia trófica (LEGRAND et al., 1992 apud FAO, 2004).

Os bioensaios com camundongos são utilizados para monitorar peixes suspeitos em alguns países. Porém, esses ensaios biológicos apresentam falta de especificidade para os diferentes tipos da toxina. A variação no peso dos camundongos também é um fator limitante do método em uma população de camundongos e a relação dose injetada versus tempo de morte não é linear (FAO, 2004).

O método descrito por Banner et al. (1960) detalhado por Yasumoto et al. (1984) é adotado universalmente para a detecção de ciguatoxinas em peixes, onde a relação entre dose e tempo de morte dos camundongos é usada para quantificar cada fração. O total da letalidade é expressa em Unidades Camundongos, do inglês *Mouse Unit* (MU) (LEWIS et al., 1991).

Estudos recentes demonstram que ensaios bioquímicos ou imunoquímicos é um método simples, sensível e específico. O principal problema deste método é a reação cruzada com outros compostos poliéteres e o limitado suprimento de anticorpo. Atualmente, os principais métodos desenvolvidos são radioimunoensaios, imunoensaios enzimáticos (ELISA), imunoensaios baseados em anticorpos monoclonais (FAO, 2004).

As ciguatoxinas possuem um grupo hidroxil primário reativo que permite a sua detecção e quantificação em extratos crus de peixe por CLAE acoplado a detectores de fluorescência ou de espectrometria de massa. Os ensaios químicos (CLAE, RMN, CZE) são procedimentos que podem ser empregados para trabalhos de pesquisa e monitoramento por sua precisão, sensibilidade, seletividade e especificidade (LEWIS et al., 1991).

Gambierdiscus toxicus (Figura 09) foi o primeiro exemplo da implicação de dinoflagelados bentônicos na produção e na transferência de ficotoxinas ao longo da teia trófica marinha (YASUMOTO et al., 1977). Durante os estudos que sugeriram que o *G. toxicus* era o principal vetor da intoxicação ciguatera, foi observado uma abundância em termos de espécies e de populações de dinoflagelados bentônicos em comunidades de recifes de corais, despertando a atenção para importância deste grupo como potenciais fontes de toxinas (YASUMOTO et al., *op cit.*).

Posteriormente, a toxigenicidade de várias espécies foi testada em outros estudos revelando a produção de metabólitos tóxicos e, confirmando a produção de diversas ficotoxinas de origem bentônica (YASUMOTO et al., 1980; TOSTESON et al., 1986; YASUMOTO et al., 1987; TOSTESON et al., 1989).

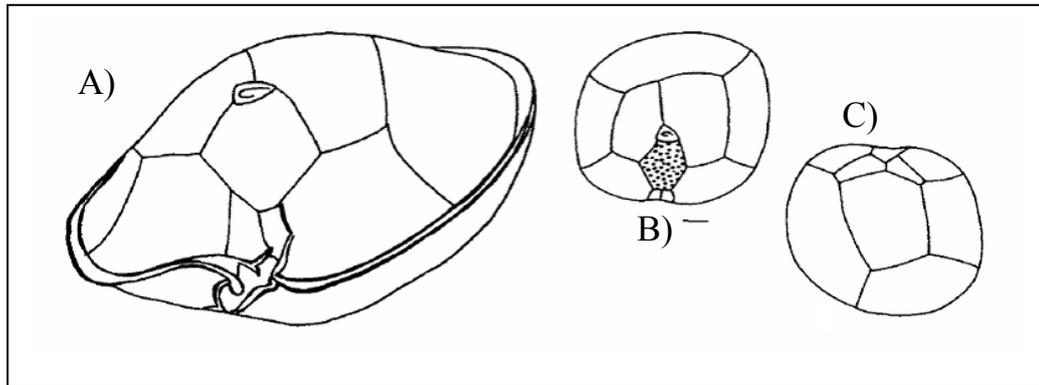


Figura 09. Dinoflagelado epibentônico *Gambierdiscus toxicus*. Implicado no Envenenamento Ciguatera por Pescado. A) Célula exibindo sua epiteca e Sulcus. B) Célula em visão apical. C) Célula em visão antapical. Barra = 10 μ m. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

Comunidades de dinoflagelados bênticos e epífitos dos gêneros *Gambierdiscus*, *Ostreopsis* (Figura 10), *Coolia* (Figura 11), *Prorocentrum* e *Amphidinium* são implicados em deflagrações de Ciguatera em áreas endêmicas (Figura 13) (LEHANE; LEWIS 2000). Estas comunidades de dinoflagelados variam na composição em espécies e na concentração celular de acordo com o local (LEHANE, 1999). Alguns pesquisadores acreditam que uma mistura na associação de dinoflagelados tóxicos contribui para o polimorfismo das características da ciguatera (YASUMOTO et al., 1987; LEHANE, 1999, LEWIS, 2001).

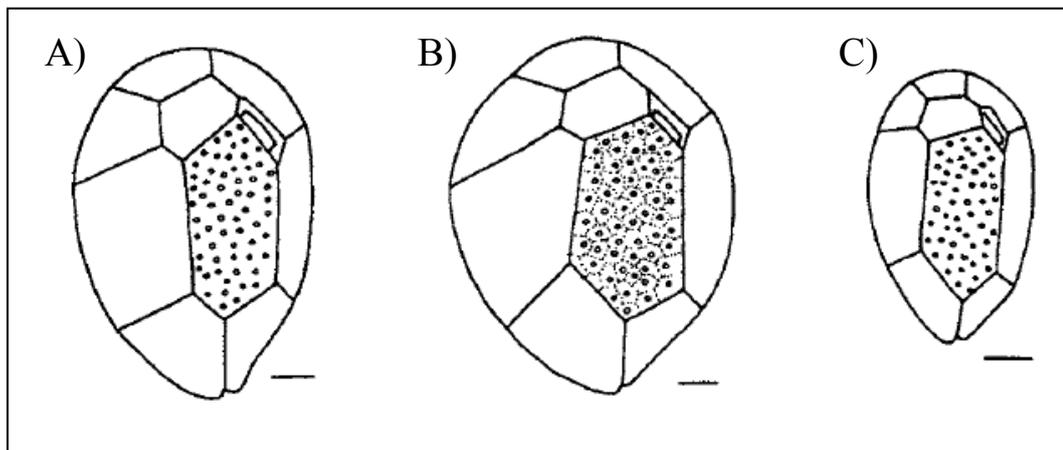


Figura 10. Dinoflagelados epibentônicos *Ostreopsis* em visão apical. A) *O. siamensis* espécie tipo do gênero. B) *O. lenticularis*. C) *O. ovata*. Implicados no Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 μ m. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

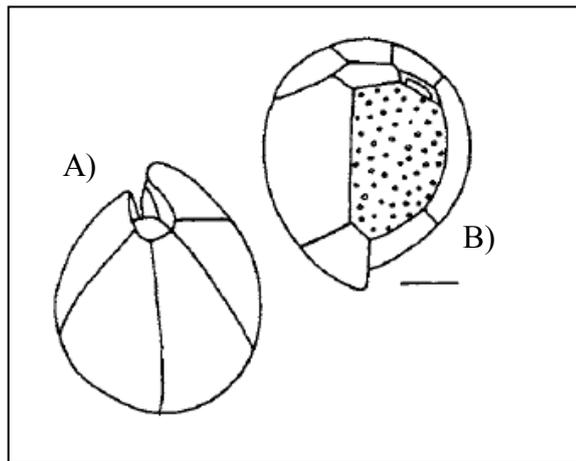


Figura 11. Dinoflagelado epibentônico *Coolia monotis*. Implicado no Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 μ m. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

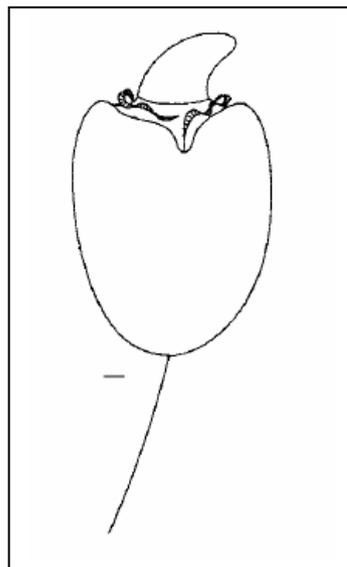


Figura 12. Dinoflagelado epibentônico *Amphidinium carterae* em visão ventral. Implicado no Envenenamento Ciguatera por Pescado. Barra = 10 μ m. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

3.4.2 Caracterização do perigo

Um termo muito usado para caracterizar o perigo é a Avaliação Dose-Resposta (FREMY; BORDET, 2002). Esta avaliação determina o grau de exposição e a probabilidade de ocorrer o efeito na saúde humana através da determinação das concentrações ingeridas associadas a frequência e severidade dos efeitos adversos decorrentes da ingestão. Os dados obtidos são mais quantitativos do que qualitativos (TOYOFUKU, 2006).

3.4.2.1 Ocadaiatos

Atuam como inibidores da atividade das proteínas fosfatases 1 e 2 A. Essas fosfatases regulam uma série de processos envolvidos no metabolismo celular, como o balanço de íons, neurotransmissão e regulação do ciclo celular. A diarreia pode ser causada pela hiperfosforilação das proteínas no epitélio intestinal resultando no desequilíbrio de fluidos pelas células (FAO, 2004).

Quatro classes de toxinas lipofílicas têm sido isoladas dos moluscos filtradores e ambas tem sido agrupadas no complexo DSP, são elas: o ácido okadaico (AO) e seus congêneres, as dinophysistoxinas (DTXs), as pectenotoxinas (PTXs), as yessotoxinas (YTXs) e os azaspirácidos (AZAs). Estas toxinas são similares estruturalmente, porém seus mecanismos de ação tóxica são diferenciados: citotoxicidade e genotoxicidade somente são evidenciados pelo AO e DTXs. As YTXs são cardiotoxinas e as PTXs são hepatotóxicas (FAO, 2004).

3.4.2.2 Ciguatoxinas e maitotoxinas

As ciguatoxinas são inodoras e insípidas e não são detectadas por testes simples. Podem ser extraídas com solventes orgânicos de polaridade intermediária, permanecendo na mistura lipídica após a limpeza da amostra em níveis de 3 a 500 nmol.kg⁻¹ (LEWIS; SELLIN, 1992; DE FOW et al, 2001).

As toxinas ciguatéricas atuam ativando os canais de íon na membrana plasmática causando a excitabilidade da célula e a sua instabilidade, tanto nos peixes quanto em mamíferos. Os canais de íons são proteínas transmembranas que são fundamentais para a comunicação intercelular. Eles formam poros na membrana plasmática permitindo o movimento iônico passivo. O mecanismo de toxidez das maitotoxinas está relacionado à ativação dos canais de cálcio (Ca⁺⁺). Enquanto que o mecanismo de ação das ciguatoxinas está relacionado ao seu efeito sobre os canais de sódio (Na⁺⁺) (LEHANE; LEWIS 2000).

As CTX(s) se ligam aos canais de sódio dependentes de voltagem (sítio 5), causando a abertura anormal da célula e o influxo de íons Na⁺⁺. Com o aumento da permeabilidade de íons Na⁺⁺ a membrana plasmática é incapaz de manter o ambiente interno da célula e controlar o volume alterando o mecanismo bioenergético. Um mecanismo similar ocorre ao nível de células epiteliais do intestino. As CTX(s) induzem o transporte intracelular de Ca⁺⁺ no intestino. O resultado desta secreção é a diarreia (LEHANE, 1999; LEHANE; LEWIS 2000; LEWIS, 2001).

A ciguatoxina é muito semelhante estruturalmente a uma neurotoxina produzida pelo dinoflagelado pelágico *Karenia brevis*, as brevetoxinas (PbTx). As CTX são inibidores competitivos das brevetoxinas pela ligação ao sítio 5 do canal de sódio dependente de voltagem com alta afinidade (LEWIS, 1991). De acordo com LEHANE (1999), os peixes são susceptíveis as ciguatoxinas que exercem efeitos similares sobre os peixes e os mamíferos. Porém, as doses requeridas são mais elevadas do que as requeridas para causar a morte dos mamíferos. Segundo este autor, os peixes possuem algum mecanismo de sequestro impedindo que a toxina se ligue ao sítio ativo dos canais de sódio excitando a membrana no peixe. Possivelmente as CTX(s) estejam associadas a uma proteína solúvel (de alto peso molecular) no músculo do peixe.

As ciguatoxinas são gorduras solúveis que podem ser rapidamente absorvidas no intestino. Podem também penetrar na pele e mucosas das membranas desencadeando os sintomas de formigamento nas mãos, boca e dificuldades de engolir (disfagia) (FAO, 2004). Essas toxinas podem ser transportadas pelo sangue onde se encontram ligadas à albumina do soro humano. Níveis moderados de ciguatoxinas podem ser encontrados no soro humano vinte e duas semanas após o consumo do peixe tóxico. São também capazes de cruzar a placenta afetando o feto e podem ser transmitidas pelo o aleitamento materno (LEHANE;

LEWIS, 2000). De acordo com DE FOW et al. (2001) a transmissão sexual da ciguatera também pode ocorrer, existem relatos de dor peniana, pélvica e abdominal após relação sexual.

Quanto a sua excreção, as ciguatoxinas não são eliminadas totalmente do organismo podendo ficar acumulada no corpo, principalmente estocadas no tecido adiposo e de tempos em tempos reativar os sintomas clínicos. Por exemplo, o consumo de peixes com baixos níveis de toxinas por vários anos na ausência dos sintomas clínicos poderiam eventualmente resultar na sensibilização a toxina (LEHANE; LEWIS, 2000). Dificuldades em urinar (emissão dolorosa) sugerem que as ciguatoxinas podem ser excretadas pelos rins, não mudando a cor da urina. Esta excreção não é total e nem rápida, já que a mesma pode permanecer no soro humano por vários meses. Outras possíveis rotas para a eliminação de ciguatoxinas são as rotas biliar e fecal. Como as ciguatoxinas possuem estrutura química similar a das brevetoxinas (PbTx), supõem-se então que apresente o mesmo comportamento farmacocinético das PbTx que tem como principais rotas de excreção a rota biliar e a fecal (LEHANE; LEWIS, *op cit.*).

3.4.3 Avaliação da exposição

Esta análise define a relação entre a probabilidade de um indivíduo consumir a substância tóxica e a quantidade ingerida (FREMY; BORDET, 2002). A produção das toxinas em questão dependerá de fatores relacionados ao meio ambiente (naturais e/ou antropogênicos) e genéticos que influenciam a distribuição e a densidade do dinoflagelado tóxico (LEHANE, 1999; TOYOFUKU, 2006).

3.4.3.1 Ocadaiatos

Os sintomas da doença iniciam-se dentro de 30 minutos a poucas horas após o consumo de moluscos tóxicos. A dose mínima para induzir os sintomas está entre 32-55 μ g de AO e/ou DTX-1. Estes sintomas são caracterizados por distúrbios gastrointestinais, tais como: náuseas, vômito, diarreia e dores abdominais. O AO também é um promotor de tumores. Esta toxina se liga a receptores específicos, as proteínas fosfatases, o que leva a um aumento dessas proteínas no sistema digestivo de consumidores regulares de moluscos. Não há registros de fatalidades. A recuperação ocorre dentro de três dias com ou sem tratamento médico (FAO, 2004).

Os regulamentos europeus vigentes permitem valores máximos conjuntos de AO, DTXs e PTXs de 160 μ g AO eq.kg⁻¹ de carne comestível. O envenenamento diarreico por moluscos é uma doença gastrintestinal sem sintomas neurológicos relatada mundialmente. Esta síndrome foi inicialmente descrita no Japão nos anos de 1976 e 1978 e desde então representa uma ameaça à saúde pública e a economia do Japão e da Europa (HALLEGRAEFF, 1993). Atualmente, está amplamente difundida com relatos na Europa, na Ásia, na Oceania, nas Américas do Norte e Sul onde ocorre no Chile, Argentina e Uruguai e também no Brasil (HALLEGRAEFF, 1993; AVARIA, 1989; MÉNDEZ et al., 1993; PROENÇA et al., 1998).

Na Espanha, em 1981, os eventos associados à presença do dinoflagelado *D. acuminata* e *D. acuta* causaram 5.000 mil casos de gastroenterite. Na França entre os anos de 1984 e 1985 registraram-se cerca de 10.000 e 2.000 casos, respectivamente, com toxinas diarreicas após o consumo de mexilhões. Nos EUA, em 1980 casos esporádicos ocorreram na região de New York e Nova Jersey. Porém nos anos seguintes a incidência aumentou, de 31 casos em 1980 passou para 210 casos em 1981 e 1332 casos em 1982 e 1951 casos em 1983. Na Bélgica em fevereiro de 2002 ocorreram 403 casos de DSP devido ao consumo de mexilhões importados da Dinamarca. Neste mesmo país, em 1990, cerca de 170 μ g de AO.

100g de carne⁻¹ foram detectados em mexilhões da costa norte do país e estes foram exportados para a França onde levou a ocorrência de 415 casos de intoxicação (FAO, 2004).

No Chile em 1991 um episódio tóxico envolvendo as toxinas diarreicas acometeu cerca de 100 pessoas. Em 1992 estas mesmas toxinas foram detectadas em cultivos de moluscos no Uruguai. Na Argentina foram relatados 40 casos de intoxicação no início da década de 90 (FAO, 2004).

No Brasil, o único caso confirmado da intoxicação humana por toxinas diarreicas ocorreu em 1990 no estado de Santa Catarina. Várias pessoas apresentaram transtornos gastrointestinais e diarreia após o consumo de mexilhões (ZENEBOM; PREGNOLATO apud PROENÇA, 2000). Nas baías de Sepetiba e Ilha Grande, RJ, o AO foi detectado em concentrações abaixo das recomendadas como seguro (nanogramas por gramas), não levando aos sintomas tóxicos, porém o AO é produtor de câncer no estômago e intestino representando um perigo silencioso principalmente nos consumidores regulares de moluscos (FAO, 2004; OLIVEIRA et al., 2005; FERREIRA et al., no prelo; LOURENÇO et al., 2007a; MARINÉ, 2007).

3.4.3.2 Ciguatoxinas e maitotoxinas

Os sintomas aparecem em média dentro de 2 a 30 horas após o consumo do peixe tóxico e pode variar geograficamente, entre indivíduos (idade, peso e sexo), a espécie de peixe, quantidades e partes do peixe consumido, podendo variar também temporariamente dentro de uma mesma área. No geral, ocorre distúrbio gastrintestinal, dor muscular e na articulação, dor de cabeça, frio, suor (transpiração), vertigem, problemas neurológicos e cardiovasculares (LEWIS, 1991; LEWIS, 1992; LEWIS, 2001; VAN DOLAH, 2002). Em casos graves de intoxicação ocorre paralisia, coma e morte. Porém, os casos de óbito ocorrem em menos de 1% dos acontecimentos e está quase sempre associada ao consumo de partes muito tóxicas como fígado, vísceras, órgãos, ovas e etc. (LEWIS, 1992).

Os sintomas gastrointestinais desenvolvem-se dentro 12 a 24 horas. É muito semelhante a uma intoxicação alimentar cujos sintomas são náusea, diarreia aquosa e algumas vezes vômito que quase sempre diminui em 24 horas. Esses sintomas podem levar a desidratação (LEWIS, 1991; DE FOUW et al., 2001).

Os sintomas neurológicos são bem distintos para a Ciguatera (LEHANE; LEWIS 2000). Entre os sintomas neurológicos os mais comuns estão às sensações de formigamento, podendo variar desde uma leve sensação de formigamento ou coceira envolta da boca até a paralisia muscular, amolecimento dos dentes e ataxia. Outros sintomas neurológicos muito característicos são: hipersensibilidade ao frio, reversão térmica (calor/frio) e desintéria. Os sintomas neurológicos podem durar semanas, meses ou anos ou ocorrer periodicamente (LEWIS, 2001). Mesmo curadas, algumas vítimas podem apresentar a recorrência dos sintomas ao ingerir algum tipo de alimento preparado com peixe. Não existe um soro e a toxina é acumulativa (LEWIS, 1991; ARCILA-HERRERA et al., 2001).

As principais manifestações cardiovasculares são bradicardia, taquicardia, hipotensão arterial. Embora sérios estes sintomas desaparecem dentro de cinco dias após o início da intoxicação (LEWIS, 1991). O tratamento da intoxicação ciguatera é essencialmente de suporte baseado nos sintomas apresentados pela vítima, mas o uso de manitol nas primeiras 24 horas tem sido indicado por sua atuação na regulação osmótica (ARCILA-HERRERA et al., 2001).

O envenenamento ciguatera é uma doença de origem alimentar marinha, causada pelo consumo da carne de peixes de áreas tropicais e subtropicais. Essa síndrome ocorre ao longo dos trópicos, principalmente em regiões de corais (Figura 13). Estima-se que 50.000 pessoas são afetadas anualmente por ciguatera (LEHANE; LEWIS 2000).

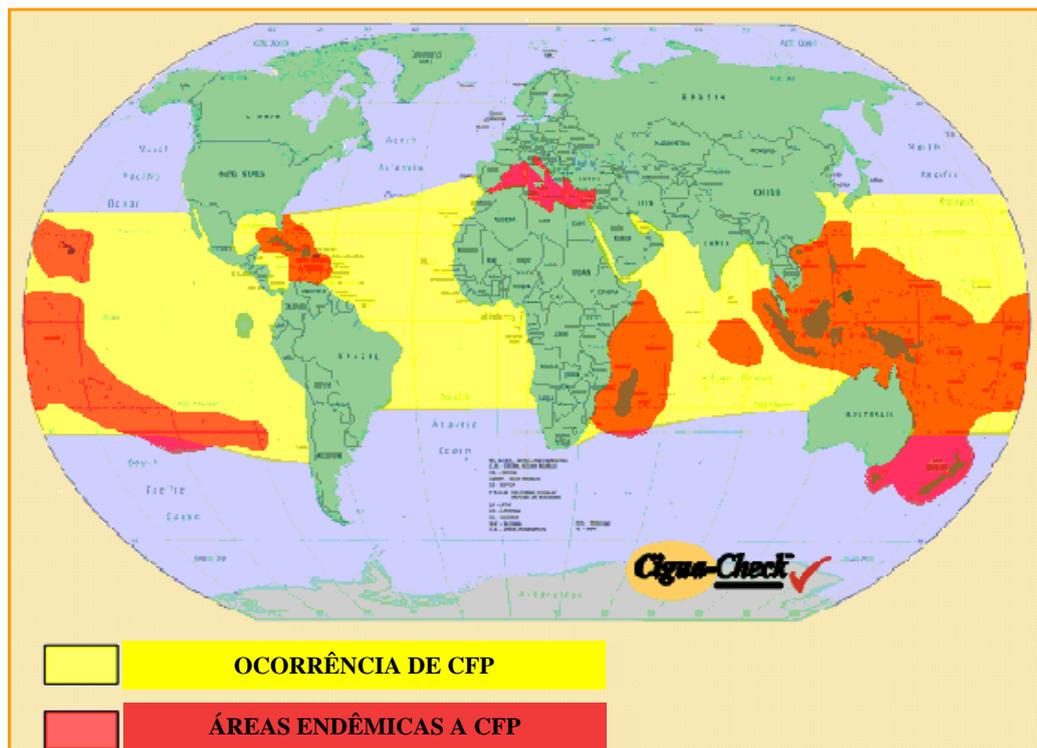


Figura 13. Distribuição da ocorrência de áreas endêmicas para o Envenenamento Ciguatera por Pescado. Disponível em: <http://www2.oceanit.com/services/research_development/resear8.jpg> .

A doença é endêmica em todas as Ilhas do Caribe, Golfo do México, nos Estados Unidos, em todo o arquipélago do Pacífico Tropical, Japão, Oceano Índico e Madagascar (DE FOUW et al., 2001; FAO, 2004). O litoral brasileiro encontra-se dentro do cinturão de ocorrência da doença e as espécies envolvidas em registros de toxidez em áreas endêmicas são espécies migratórias que podem chegar a nosso litoral contaminadas (Figura 13).

Anualmente, é informado aproximadamente 50.000 casos de CFP no mundo (LEHANE; LEWIS 2000). A ciguatera é um problema nas regiões tropicais e subtropicais como o Pacífico, Caribe e o Oceano Índico. Porém, esporadicamente casos isolados têm ocorrido com frequência em regiões temperadas como a Europa e a América do Norte. O turismo entre estes países e as áreas endêmicas e a importação de pescados susceptíveis tem resultado na aparição da ciguatera em locais onde antes não se encontrava ou encontrava-se raramente (FAO, 2004).

Na França duas pessoas apresentaram os sintomas logo após terem consumido pescado congelado proveniente da China. Na Alemanha, quatro pessoas após voltarem de uma excursão na República Dominicana apresentaram os sintomas neurológicos. Turistas italianos apresentaram os sintomas após viajar as ilhas do Caribe (DE FOUW et al., 2001).

Em 1993, na cidade de Manakara, costa oeste de Madagascar, África, ocorreu um surto muito grave de intoxicação ciguatérica devido ao consumo de carne de tubarão. A taxa de mortalidade foi de 20% (morreram 98 de cada 500 pessoas intoxicadas). Cinco dias após a tragédia já havia falecido a maior parte dos casos mais graves (FAO, 2004).

No Canadá entre os anos de 1983 a 1997, vinte e dois casos foram informados e na maioria dos casos devido ao consumo de pescado importado. Em Quebec no ano de 1988 três integrantes de uma mesma família tiveram sintomas gastrointestinais e neurológicos e necessitaram internação. Na Austrália em 1988 foram publicados os detalhes clínicos de uma base de dados de Queensland com 617 casos de intoxicações de 225 surtos reconhecidos em um período de 23 anos (FAO, 2004).

Em Fiji, na Ásia, 925 casos de CFP ocorreram no ano de 1984 após o consumo de peixe pargo, barracuda, mero e imperador, com relato de um óbito. Na China em Hong Kong entre 1988 a 1992, 47 surtos acometeram 397 pessoas, e o peixe pargo foi responsável por mais de 50% dos casos descritos. Na Polinésia Francesa a Ciguatera alcançou proporções de uma epidemia mais de 24.000 pacientes entre os anos de 1960 e 1984 (FAO, 2004).

Desde 1983 até 1992, nos EUA, 129 casos acometeram 508 pessoas. A maioria dos casos ocorreu na Flórida e no Hawaii. Em Miami, a incidência estimada anualmente é de 50 casos para cada 100.000 da população. Na Flórida meridional estima-se que cerca de 90 % dos 1300 casos ocorridos é devido a peixes oriundos das Bahamas (DE FOUW et al., 2001).

Em alguns países da América Central e do Sul, a ciguatera já se fez presente (FAO, 2004). No Chile em 1992 uma mulher ficou gravemente enferma uma hora e meia após ter consumido salmões cultivados. No México, a ciguatera ocorre tanto na costa do Caribe quanto na costa do Pacífico. A intoxicação se faz presente principalmente na primavera e no verão (FAO, *op cit.*). Na maioria dos países não existe normas ou regulamentações específicas para as ciguatoxinas. A medida sanitária amplamente empregada é a proibição da venda de pescados que ofereçam alto risco, ou seja, originados de áreas conhecidas como tóxicas (FAO, *op cit.*). Na União Européia é proibida a comercialização de pescado “*in natura*” ou de seus produtos contaminado com as toxinas ciguatéricas (LEHANE; LEWIS 2000). No Hawaii foi estabelecido um programa que emprega imunoensaios. Todas as amostras positivas são consideradas perigosas e retiradas para a venda no mercado. Os Bioensaios utilizando camundongos têm sido empregados para o monitoramento de peixes suspeitos (FAO, 2004).

3.4.4 Caracterização do risco

É o resultado da avaliação das etapas anteriores (FREMY; BORDET 2002). É a descrição da natureza e da magnitude do risco de contrair a doença, ou seja, o risco estatístico de se contrair a intoxicação. Esses riscos estatísticos variam de acordo com o país e a espécie de pescado envolvida (LEHANE; LEWIS 2000). Em virtude da globalização, a incidência de doenças envolvendo ficotoxinas vem tomando maiores proporções sendo necessário um levantamento de informações para que o risco possa ser avaliado.

Em relação às ficotoxinas ciguatéricas o risco é maior na área endêmica tanto por ser a área de ocorrência dos organismos produtores (microalgas toxígenas) quanto por ser uma região de maior consumo de pescado, resultando em uma maior exposição. Porém, o risco também existe para as outras regiões do mundo porque cerca de 400 espécies de peixes tropicais são migratórios, a maioria de alto valor comercial, e podem adquirir a ficotoxina nas regiões endêmicas e transportá-las à outras partes do mundo (LEWIS, 2001).

A maioria dos peixes migratórios possui alto valor comercial na alimentação humana e constitui a base de muitas indústrias pesqueiras e peixarias locais. Normalmente, essas espécies estão livres da contaminação, adequadas para o consumo humano, porém, em determinadas áreas e épocas do ano, as mesmas espécies podem tornar-se tóxicas, em função da maior proliferação desses dinoflagelados e permanecendo desta forma por vários meses ou até mesmo anos, já que a toxina não é liberada facilmente de seus organismos. Por outro lado, com o aumento do comércio internacional de pescado e do turismo, a população alvo tornou-se globalizada, aumentando o risco da intoxicação ciguatera para áreas fora do ambiente de produção da toxina. Desta forma é difícil prever quando e onde a intoxicação poderá ocorrer. Para se avaliar o risco que a população humana corre ao consumir pescado contaminado, tem sido proposto pela comunidade científica uma análise de risco. Tal processo envolve a fusão da avaliação científica, a administração prática do risco e programas de monitoramento e comunicação para divulgação do problema (LEHANE, 1999).

É difícil definir a prevalência de peixes ciguatéricos, porque a mesma depende da ocorrência ou não do dinoflagelado tóxico, que é improvável e irregular. Do mesmo modo

que peixes considerados tóxicos podem ter uma alta prevalência em uma área e não ter em uma outra área próxima (FAO, 2004). E por outro lado, em uma área endêmica para a ciguatera, a prevalência de peixes pelágicos poderia ser esperada mais baixa do que a de peixes de hábitos bentônicos. A toxicidade do peixe dependerá principalmente da área onde ele habita e do que ele se alimenta. Quase sempre os peixes tóxicos são restritos de regiões quentes, tropicais e subtropicais (LEHANE, 1999). A toxicidade varia entre espécies, entre indivíduos de uma mesma espécie, estações do ano e habitat. Por exemplo, a espécie *Gymnothorax javanicus*, a moréia, é considerado o peixe mais tóxico, e tem sido usada para pesquisas e testes imunológicos (LEWIS, 2001). A toxina é potente e chega a contribuir com cerca de 90% da letalidade total. No Oceano Pacífico este toxicante constituirá um perigo para a saúde humana a concentrações maiores do que $0,1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de peixe (LEHANE; LEWIS 2000; LEWIS, 2001).

No peixe tais concentrações são influenciadas por diversos fatores, como a taxa de ingestão, eficiência de absorção, grau e natureza de biotransformação da toxina ao longo da teia trófica, taxas de excreção e crescimento do peixe. No homem, a sintomatologia causada será em função da dose ingerida que está relacionada à espécie de peixe e ao seu habitat, ao tamanho do peixe e parte consumida (LEWIS, 1991; LEHANE, 1999). Outro importante fator que deve ser considerado nessa estimativa de risco é que peixes capturados na região endêmica podem ser comercializados congelados, tal processamento não interfere na viabilidade da toxina, e em função da globalização do mercado, o pescado contaminado poderia causar Ciguatera em qualquer parte do mundo (LEHANE, 1999).

Em relação às toxinas diarréicas há uma distribuição latitudinal ampla, tanto da ocorrência das próprias toxinas quanto de seus organismos produtores. Portanto não há uma determinada área de maior ou menor risco de se contrair o Envenenamento Diarréico por Moluscos ou intoxicação diarréica. O risco estará associado ao menor ou maior consumo de moluscos, principalmente cuja origem seja de local isento de monitoramento quanto a presença de ficotoxinas e do agente produtor (dinoflagelado tóxico).

A Comissão Oceanográfica Intergovernamental (COI) recomenda que deve ser considerada de alto risco para a saúde pública qualquer região onde haja consumo de pescado sem o devido monitoramento (REGUERA, 2002).

3.5 Dinoflagelados Epibentônicos Potencialmente Tóxicos

Os dinoflagelados correspondem a um grupo fitoplanctônico que ocorre amplamente em todos os ambientes aquáticos. Existem cerca de 2000 espécies de dinoflagelados viventes. Estes organismos são protistas, eucariotos unicelulares, na sua maioria, marinhos e fotossintetizantes. Entretanto, metade das formas existentes é heterotrófica ou mixotrófica. A célula em sua fase móvel apresenta dois flagelos dimórficos, as reservas alimentares são tipicamente ácidos graxos insaturados e amidos e o seu ciclo vital apresenta dois estágios: um móvel onde a célula vegetativa está envolvida em uma membrana e por uma estrutura celulósica, a teca. No outro estágio a célula é imóvel e se encontra dentro de um cisto. A parede celular é constituída de celulose e de acordo com a presença ou ausência de placas em sua membrana, denominada amfiesma ou teca, os dinoflagelados podem ser classificados em tecados ou atecados (STEIDINGER; TANGEN 1997; HACKETT et al., 2004).

A comunidade de microalgas da baía de Sepetiba é composta, sobretudo pelas diatomáceas e dinoflagelados (VIANNA, 2003; VILLAC et al., 2004; FERREIRA et al., 2008ab). Estes grupos apresentam espécies potencialmente nocivas constituindo um perigo para este ecossistema, principalmente porque em determinadas circunstâncias algumas áreas da baía podem apresentar características ambientais propícias a estas espécies. Além disso, a baía encontra-se sujeita a outros fatores críticos devido às atividades portuárias que são praticadas nessa região, principalmente a oeste do canal de entrada da baía (Porto da Guaíba),

tornando esse ecossistema marinho susceptível à introdução de espécies de dinoflagelados potencialmente tóxicos e/ou nocivos (forma vegetativa e de resistência) via água de lastro dos navios de todas as partes do mundo (SCOTT, 1998; VILLAC et al., 2004).

Os gêneros *Dinophysis*, *Prorocentrum*, *Gymnodinium* e *Ceratium* foram listados para as águas da baía (VILLAC et al., 2004). Dentre a comunidade de dinoflagelados da ilha Guaíba foi identificado vários táxons potencialmente nocivos, quer seja por capacidade toxígena, quer seja por possibilidade de formação de florações (FERREIRA et al., 2008a; OLIVEIRA et al., 2008).

Existem poucos relatos de eventos nocivos registrados para esta região. Em janeiro de 1998 houve uma extensa floração de algas nocivas (10 km) que causou a morte de peixes, siris e problemas de pele (queimaduras) em banhistas que tiveram contato com a água (MATIAS, 1999). As FAN's não são comuns nas águas da baía, porém a ficotoxina ácido okadaico (AO) foi detectada em baixas concentrações (ng.g^{-1} glândula digestiva de molusco) em mexilhões (*P. perna*) coletados de bancos naturais nos anos de 2001 e 2004 (OLIVEIRA et al., 2005; FERREIRA et al., no prelo). Nenhum caso de intoxicação humana foi registrado. Mas, o AO é um potente produtor de tumores do sistema digestivo e as baixas concentrações detectadas alertaram para a exposição ao perigo de câncer em consumidores regulares de moluscos. Recentemente, em maio de 2009, ocorreu uma intensa e persistente (durante duas semanas) floração de dinoflagelados atecados, *Gymnodinium* spp. ao longo do litoral de Mangaratiba (Figura 14), associado à mortalidade de peixes como moréias e baiácús (informação verbal)².



Figura 14. Floração nociva no entorno de fazenda de cultivo de macroalgas. Principais organismos implicados dinoflagelados atecados gymnodinióides (manchas avermelhadas) no litoral de Mangaratiba em 25 de maio de 2009.

² Notícia fornecida por Vanessa Ferreira professora da Faculdade de Oceanografia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro-UERJ.

Em 2004 e 2008 foram identificadas várias espécies de *Dinophysis* (*D. acuminata*, *D. caudata*, *D. forti*, *D. ovum*, *D. tripos* e *D. rotundata*) e alguns morfotipos do gênero *Prorocentrum* (*Prorocentrum* sp1 e sp2) foram relatados em bancos naturais e área de cultivo de mexilhões na Ilha Guaíba (FERREIRA, 2004; FERREIRA, 2009); Na Ponta da Marambaia e na Ilha Guaíba, baía de Sepetiba, Oliveira et al. (2008) registraram a ocorrência de morfotipos de dinoflagelados bentônicos potencialmente tóxicos dos gêneros *Coolia*, *Ostreopsis* e *Prorocentrum*. Não foi observada nenhuma evidência de floração destas espécies. Em um primeiro momento foram relatadas apenas as abundâncias relativas. Posteriormente foi investigada a variabilidade espaço-temporal, no entanto, ainda que em uma escala temporal sazonal e carecendo avaliar variações interanuais. Estas espécies estão implicadas na produção de várias ficotoxinas que podem causar a síndrome diarréica ou até mesmo câncer como efeito crônico. Até o momento a produção de AO na baía tem sido associada às espécies do gênero *Dinophysis* (FERREIRA et al., 2008b).

Dinoflagelados epibentônicos contribuem significativamente para a produção de ecossistemas aquáticos (comunidades de recifes de corais, lagoas costeiras, manguezais, estuários) (VILA et al., 2001; FAUST, 2004; HEIL et al., 2004). Muitas dessas espécies são encontradas em associação epifítica (com macroalgas e plantas marinhas) e epizoóicas (sobre recifes de coral) além de ocorrer sobre detritos, sedimento, areia (FAUST, 1991; FAUST, 1994; FAUST, 2004; HEIL et al., 2004) e podem ser tóxicas e/ou potencialmente nocivas para toda teia trófica marinha, inclusive o homem (FUKUYO, 1981; FAUST, 1996; TEN-HAGE et al., 2000; BRESCIANINI et al., 2006; LÓPEZ-FLORES et al., 2006; DURANDO et al., 2007; PARSONS; PRESKITT, 2007; MANGIALAJO et al., 2008; ALIGIZAKI et al., 2009).

3.5.1 Aspectos taxonômicos

Nos dinoflagelados tecados a região superior é denominada epiteca e a inferior hipoteca. Ambas as regiões estão separadas por um cíngulo que aloja o flagelo transversal e na região ventral da hipoteca se encontra o sulcus que aloja o flagelo longitudinal (Figura 15, A, B, C e D). Tanto a epiteca quanto à hipoteca apresentam placas e em algumas espécies essa placas podem se prolongar. Essas projeções podem ser denominadas na epiteca de projeções apicais e na hipoteca de projeções antapicais. Em algumas espécies ocorrem essas projeções (estruturas ocas) e também espinhos (estruturas maciças). Estas estruturas acessórias (projeções, espinhos e etc.) são utilizadas como uma característica taxonômica (STEIDINGER; TANGEN 1997).

As placas de natureza celulósica que formam parte da parede celular destes organismos são consideradas como a característica taxonômica mais importante, e a sua forma, número e posição são próprios de cada espécie. Devido a sua importância na identificação das espécies, as placas têm a seguinte denominação e nomenclatura (Figura 15, C, E e F): placas da epiteca (apicais: x'; intercalares: a (de posição dorsal); rômbrica: 1' (de posição ventral); pré-cingulares: x'') e placas da hipoteca (pós-cingulares: x'''; intercalares: p; antapicais: x''') (STEIDINGER; TANGEN 1997).

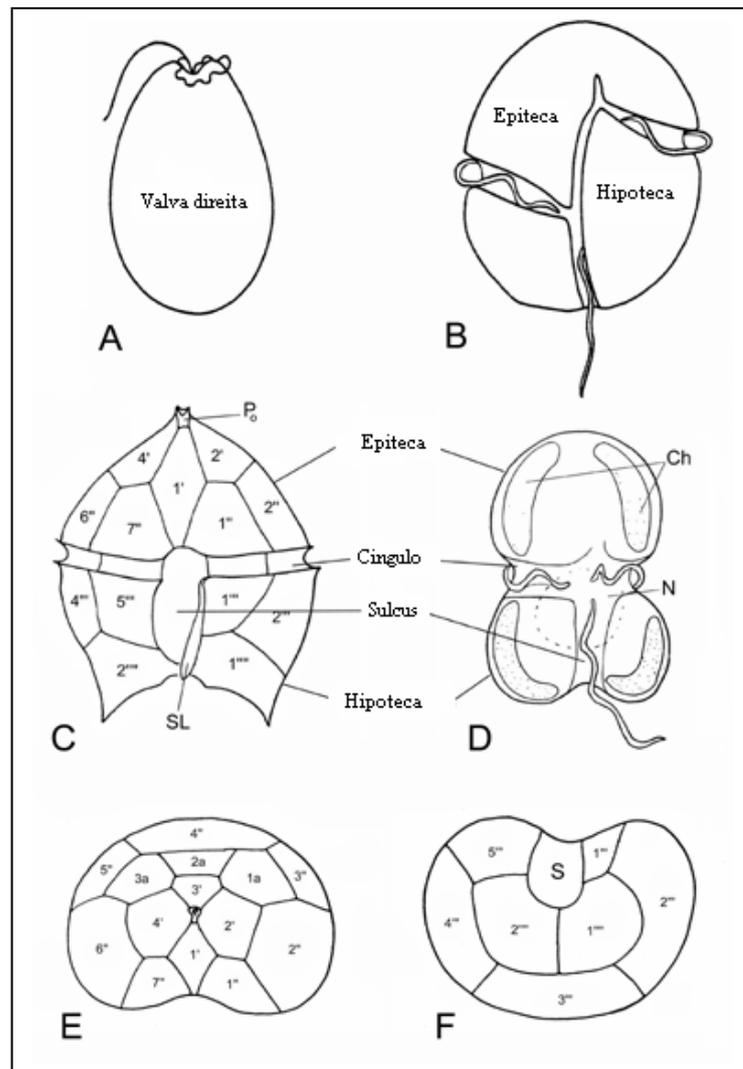


Figura 15. Orientações básicas de taxonomia de dinoflagelados. **A** célula desmoconte; **B** célula dinoconte; **C** tabulação das placas tecais de um dinoflagelado em visão ventral, onde: (P₀) poro apical, (') placas apicais, (') placas pré cingulares, (') pós-cingulares, (') antapicais; **D** dinoflagelado atecado onde (Ch) cloroplastos, (N) núcleo; **E** dinoflagelado tecado em visão apical onde: (a) placas intercalares anteriores; **F** dinoflagelado tecado em visão antapical onde: (S) sulcus. Ilustrações adaptadas de Steidinger e Tangen (1997).

Os dinoflagelados apresentam uma diversidade muito grande na sua morfologia externa. Tanto nos atecados quanto nos tecados a identificação é realizada por uma combinação de características morfológicas. Amostras de campo vivas, conservadas ou amostras de espécies cultivadas são usadas para a identificação e os métodos comumente empregados para fins de identificação são a microscopia de campo claro (ML) e a microscopia eletrônica de varredura (MEV) (HALLEGRAEFF et al., 1995).

Nas espécies tecadas, os caracteres considerados importantes são a tabulação e ornamentação das placas de celulose, a arquitetura da área periflagelar e a banda intercalar (STEIDINGER; TANGEN 1997; FAUST, 1994). As placas de celulose apresentam-se arranjadas em padrões distintos, chamadas de tabulação (ou fórmulas da placa), que são usadas como características taxonômicas. O sistema Kofoidiano de nomenclatura de placas proposto por Kofoid e modificado por Balech em 1980 é comumente usado para a identificação das espécies. Este sistema reconhece a série de placas baseada em sua posição sobre a célula. No sistema Kofoidiano de nomenclatura de placas existe 6 principais series:

apical ('); intercalar anterior (a); precingular ("); póscingular ("); intercalar posterior (p); antapical ("). O padrão da placa também é importante para identificar as espécies de dinoflagelados e refere-se à morfologia específica de cada placa particular (STEIDINGER; TANGEM 1997).

3.5.2 *Coolia* (Meunier 1919)

Espécie tipo: *Coolia monotis* Meunier 1919 (Figura 11)

Dinoflagelado tóxico, planctônico ou bentônico, epifítico. Hábitat: estuarino e marinho, águas tropicais e subtropicais. Amplamente distribuído. Espécie nerítica comum em águas temperadas e tropicais. Células pequenas, suavemente comprimidas anterior-posteriormente, dinocoque. Tabulação Po, 3' (4'), 7" (6"), 6c, ≥6s, 5"', 1p, 2"', Vp entre 1" e 7". Apex deslocado dorsalmente para a direita, epiteca ligeiramente menor que a hipoteca. Mede 25 a 45 µm de diâmetro e 30 a 50 µm de comprimento. São células fotossintéticas com muitos cloroplastos circulares marrom-dourado. Quanto à toxicidade produz uma toxina chamada de cooliatoxina, uma neurotoxina análoga a yessotoxina.

3.5.3 *Ostreopsis* (Schmidt 1901)

Espécie tipo: *Ostreopsis siamensis* Schmidt 1901

Tecados. Células de tamanho médio à grande, suavemente comprimidas anterior-posteriormente, dinocoque. Tabulação Po, 3' (4'), 7" (6"), 6c, ≥6s, 5"', 1p, 2"', Vp entre 1" e 7" ou entre 1" e a 6". A família Ostreopsidaceae (Lindermann, 1928) está distribuída na maioria das comunidades de dinoflagelados epífitos e bênticos de regiões endêmicas a ciguatera (35°N a 35°S). A distribuição geográfica de *O. lenticularis*, *O. ovata* e *O. siamensis* é a mesma do *G. toxicus*. A única diferença é que *O. lenticularis* e *O. siamensis* foram relatadas no mar Mediterrâneo (apenas a incidência na água e a potencialidade tóxica sobre macroalgas).

Os dinoflagelados bentônicos do gênero *Ostreopsis* são comuns em águas temperadas e tropicais (VILA et al., 2001; ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS 2006; MONTI et al., 2007; TOTTI; PENNA 2007; MANGIALAJO et al., 2008). Algumas espécies produzem ficotoxinas potencialmente tóxicas que estão implicadas em intoxicações humanas por inalação dos aerossóis marinhos contendo palitoxinas e seus análogos e na contaminação de caranguejos, ouriços do mar e peixes (GRANÉLI et al., 2002; MANGIALAJO et al., 2008). Foram descritas 9 espécies de *Ostreopsis* spp. e até o momento 4 espécies (*O. lenticularis*, *O. mascarenensis*, *O. ovata* e *O. siamensis*) são conhecidas por produzirem potentes toxinas (FUKUYO, 1981; FAUST; GULLEDGE 2002; CEDIT, 2009b).

3.5.4 *Prorocentrum* (Ehrenberg 1833)

Espécie tipo: *Prorocentrum micans* Ehrenberg 1833

Tecado, planctônico ou bentônico, pode ser epifítico ou episâmico. Células de tamanho pequeno à médio, desmoque, fortemente achatadas lateralmente, móveis, desprovidas de cíngulo, teca celulósica dividida em valva direita (que contém placas do complexo do poro flagelar) e esquerda, e dois flagelos. As espécies bentônicas estão distribuídas amplamente em águas tropicais e subtropicais. Atualmente cerca de 70 espécies são descritas e cerca de 13 espécies são produtoras de AO, DTX e substâncias icotóxicas. As espécies deste gênero possuem características morfológicas simples de serem identificadas quando comparadas a outras formas de dinoflagelados tecados. As principais características usadas para a identificação: forma e tamanho da célula, identificação de ultraestrutura da superfície da valva (forma, tamanho e disposição dos poros tricocísticos), a arquitetura da área periflagelar, padrões da banda intercalar (zona de crescimento metacístico).

3.5.5 *Gambierdiscus* (Adachi & Fukuyo 1979)

Espécie tipo: *Gambierdiscus toxicus* Adachi & Fukuyo 1979

Tecado, bentônico, epifítico, pode exibir comportamento ticoplanctônico. Tóxico, envolvido no Envenenamento Ciguatera por Pescado (CFP). Hábitat: águas costeiras tropicais e subtropicais, recifes de coral. Tamanho: médio à grande. Células comprimidas anteriormente, dinoconte. Cloroplastos presentes. Tabulação: P0, 4', 6'', 6c, 8s, 6''' e 2''''.

3.5.6 Florações de microalgas bentônicas

As microalgas (fitoplâncton ou fitobentos) existem em qualquer tipo de ecossistema aquático, são organismos unicelulares microscópicos, com atividade fotossintética. Em ambientes marinhos são as principais responsáveis pela produção primária, a base da teia trófica marinha, constituindo a principal fonte de alimento de muitos organismos (DARANAS, 2001).

Das mais de 5000 espécies de microalgas marinhas conhecidas cerca de 300 são capazes de formar florações ou “*blooms*” (proliferação excessiva) e 90 são capazes de produzir potentes toxinas. Destas espécies 71 são dinoflagelados (MOESTRUP, 2009).

Uma floração de algas nocivas (FAN) é o resultado da proliferação excessiva de microalgas com impactos negativos sobre a saúde humana, animal e/ou sobre os ecossistemas (HALLEGRAEFF, 1993). O termo FAN (em inglês “*Harmful Algae Blooms*”, HAB) foi usado pela primeira vez em 1974 na 1ª Conferência Internacional de Proliferação de Dinoflagelados Tóxicos (MASÓ; GARCÉS, 2006). É um fenômeno natural que sempre ocorreu ao longo da história e que nas últimas quatro décadas expandiu-se globalmente (HALLEGRAEFF, 1993; HALLEGRAEFF et al., 1995; ANDERSON et al., 2002; ANDERSON et al., 2008).

Hoje, o termo FAN é empregado pela Comissão Oceanográfica Intergovernamental (COI) da UNESCO para referir-se a diferentes fenômenos que envolvem microalgas nocivas do grupo das diatomáceas, dinoflagelados, haptófitas, rafidófitas e cianófitas (REGUERA, 2002; MASÓ; GARCÉS 2006).

Em condições de equilíbrio, geralmente existe uma biodiversidade composta por diferentes grupos taxonômicos de microalgas, com uma ou mais espécies dominando a comunidade. Porém, sob condições ambientais favoráveis para uma determinada espécie (disponibilidade de nutriente, luz, temperatura, salinidade, estabilidade da coluna d'água e etc) uma espécie (floração monoespecífica) ou um grupo de espécies ou até mesmo as nocivas podem atingir altas concentrações de biomassa (da ordem de 10^6 cel.l⁻¹) (MASÓ; GARCÉS 2006).

Antigamente, uma floração de microalgas (inócua ou nociva) era referenciada como maré vermelha devido à descoloração da água. Muitas destas florações eram compostas por dinoflagelados contendo pigmentos vermelhos e, as altas concentrações coloriam a água de vermelho, porém uma floração pode ser verde, amarelo, marrom ou dourado, dependendo do tipo de microalga presente e sua pigmentação (DORTCH, 2002; REGUERA, 2002; GILBERT et al., 2005; MASÓ; GARCÉS 2006).

Em algumas situações não é necessário uma floração massiva para a produção de ficotoxinas (HALLEGRAEFF et al., 1995). Algumas espécies podem produzir potentes ficotoxinas na concentração de poucas centenas de células por litro de água (DARANAS, 2001; ANDERSON et al., 2002; GILBERT et al., 2005). Um exemplo de evento tóxico típico com uma concentração celular muito baixa (10^2 - 10^4 células l⁻¹) é de episódios de DSP associados a dinoflagelados do gênero *Dinophysis* (REGUERA, 2002). Neste caso, o evento tóxico é considerado uma FAN, mas não é uma floração (MASÓ; GARCÉS 2006).

Os efeitos causados por espécies consideradas FAN's são muito variados. Algumas espécies podem produzir ficotoxinas e causar intoxicações ou até mesmo a morte de humanos

após o consumo de bivalvos e peixes que tenham acumulado a ficotoxina através da teia trófica (HALLEGRAEFF, 1993). Estas toxinas são perigosas porque são termoestáveis não sendo destruídas quando submetidas a processos de cozimento, defumação, secagem, salga e congelamento (EFSA, 2009). Outros animais podem ser susceptíveis as mesmas toxinas, mas existem outras espécies formadoras de FAN's que a estrutura física da célula pode causar danos físicos, ou seja, lesões nos tecidos, entupimento das brânquias e produzir toxinas hemolíticas e neurotóxicas que levam a morte de peixes e outros organismos. Este tipo de floração pode resultar em perdas econômicas, principalmente na aquicultura, e causar impactos ecológicos (HALLEGRAEFF, 1993; HALLEGRAEFF et al., 1995; LANDSBERG, 2002). E existem espécies de FAN's que causam mudanças na qualidade da água, descoloração, gosto e odor ruim e anoxia após a deterioração da floração ou *bloom* (HALLEGRAEFF, 1993; HALLEGRAEFF et al., 1995; ANDERSON et al., 2002; GILBERT et al., 2005; MASÓ; GARCÉS 2006; IBRAHIM, 2007).

As FAN's associadas a produtores de toxinas também podem induzir no homem: problemas respiratórios devido à inalação de aerossóis da água do mar que contém as espécies tóxicas; irritações da pele devido a reações alérgicas; a exposição crônica aos baixos níveis de toxinas (MASÓ; GARCÉS, 2006). Tanto as altas biomassas quanto os eventos tóxicos podem estar associados à mortalidade de peixes. Porém as causas associadas a estas mortalidades podem ser diferentes, tais como, baixos níveis de oxigênio, toxicidade direta, hemolisinas e perigos mecânicos (LANDSBERG, 2002; GILBERT et al., 2005; MASÓ; GARCÉS, 2006).

No cenário atual, todos os estados costeiros do mundo são afetados pelas FAN's (HALLEGRAEFF, 1993). O número de espécies tóxicas, as ficotoxinas produzidas, as regiões afetadas e os impactos causados sobre a saúde pública, o setor econômico (pesca e turismo) e o ambiente aumentaram nas últimas quatro décadas (HALLEGRAEFF, 1993; ANDERSON et al., 2002; ANDERSON, 2004; ANDERSON et al., 2008).

As possíveis causas estão relacionadas a vários fatores: o aumento das pesquisas e da capacidade analítica da comunidade científica; a dispersão natural das espécies por correntes marítimas e tempestades; o aumento da poluição em zonas costeiras devido a eutrofização cultural e/ou devido ao aumento do uso das águas próximas à costa para atividades de aquicultura, principalmente a mitilicultura; a dispersão das espécies devido às atividades humanas, como o transporte de cistos dormentes através da água de lastro de navios mercantes ou a translocação de estoques de moluscos de uma área para a outra (HALLEGRAEFF et al., 1995; ANDERSON, 2004; PROENÇA, 2006; GILBERT, 2007; ANDERSON et al., 2008).

No Brasil os relatos envolvendo FAN's se intensificaram na última década devido à expansão da atividade aquícola, sobretudo o cultivo de mexilhões (PROENÇA, 2006). Inclusive existem relatos da ocorrência de dinoflagelados epífitos potencialmente tóxicos na costa brasileira envolvidos em eventos de florações nocivas (SILVA et al., 2006; NASCIMENTO, 2006; NAVES; FREITAS, 2001 apud NASCIMENTO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008). Nos trabalhos publicados por Odebrecht et al. (2002), Mafra Júnior et al. (2006) e Proença (2006) estão registrados os principais eventos de FAN's já acontecidos no Brasil nos últimos anos.

Assim como as FAN, as florações de algas nocivas bentônicas (FANB) também podem representar um perigo em zonas costeiras urbanizadas (GRANIÉLI et al., 2002; MANGIALAJO et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2008). Na Europa, Mediterrâneo, Oceano Índico e Brasil os eventos envolvendo FANB constituem um problema sanitário devido à intoxicação de humanos (LENOIR et al., 2004; TOTTI; PENNA 2007; KERMAREC et al., 2008; MANGIALAJO et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2008).

As FANB em litoral brasileiro são esporádicas e envolve espécies do gênero *Ostreopsis*, principalmente a espécie *O. ovata* (GRANIÉLI et al., 2002; NASCIMENTO et al.,

2008). Em Arraial do Cabo e Cabo Frio, leste do estado do Rio de Janeiro, nos verões de 1998, 1999, 2001 e 2002, as florações de *O. ovata* foram associadas com a morte de ouriços do mar, a intoxicações humanas e a detecção de análogos de palitoxina na população natural (GRANÉLI et al., 2002). Em 2001, esta mesma espécie foi isolada no Canal de São Sebastião, SP e nos estados de Santa Catarina e Pernambuco em 2004 e 2006, respectivamente (NAVES; FREITAS, 2001 apud NASCIMENTO et al., 2008; SILVA et al., 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de Estudo

As coletas se concentraram na baía de Sepetiba que está localizada no litoral sul do Estado do Rio de Janeiro. A baía de Sepetiba situa-se entre as latitudes 22°54'S e 23°04'S e as longitudes 43°34'W e 44°10'W com uma área superficial de 520 km² e perímetro de 170,5 km (INEA, 2009). Limita-se ao norte e a leste pelo continente, a oeste pela baía de Ilha Grande e ao sul pela Restinga de Marambaía. Em seu litoral encontram-se os municípios de Mangaratiba, Itaguaí e Rio de Janeiro (SEMA, 1998). Sua profundidade média é de 5 metros no setor leste e 31 metros no setor oeste. No canal principal, entre Itacuruçá e Jaguanum, a profundidade média é de 24 metros. No setor oeste, onde estão localizados os pontos de amostragem desse estudo, a distribuição média anual superficial de salinidade e temperatura é de 32 e menor que 24°C, respectivamente (SCOTT, 1998). A baía é um sistema estuarino, recebendo aporte de água doce dos rios de sua bacia hidrográfica e água salgada do oceano Atlântico, através de duas passagens que o interligam. A circulação de água na baía é controlada pelo regime de marés e pelos padrões de correntes superficiais que seguem a topografia de fundo (SEMA/RJ, 1998; SCOTT, 1998).

Os pontos escolhidos são ambientes costeiros, rasos e situam-se no município de Mangaratiba (Figura 16). O primeiro ponto (P1) localiza-se na Ponta da Passagem, na Ilha Guaíba (22°59'49"S e 44°02'14"W), onde fica instalada a fazenda marinha da Associação dos Maricultores de Mangaratiba – AMAR (Figura 17). O segundo ponto (P2) localiza-se em Pescaria Velha, na Ilha da Marambaía (23°04'S e 43°53' W), onde se encontra um importante banco natural de extração de mexilhões da espécie *P. perna* explotado comercialmente na região (Figura 16).

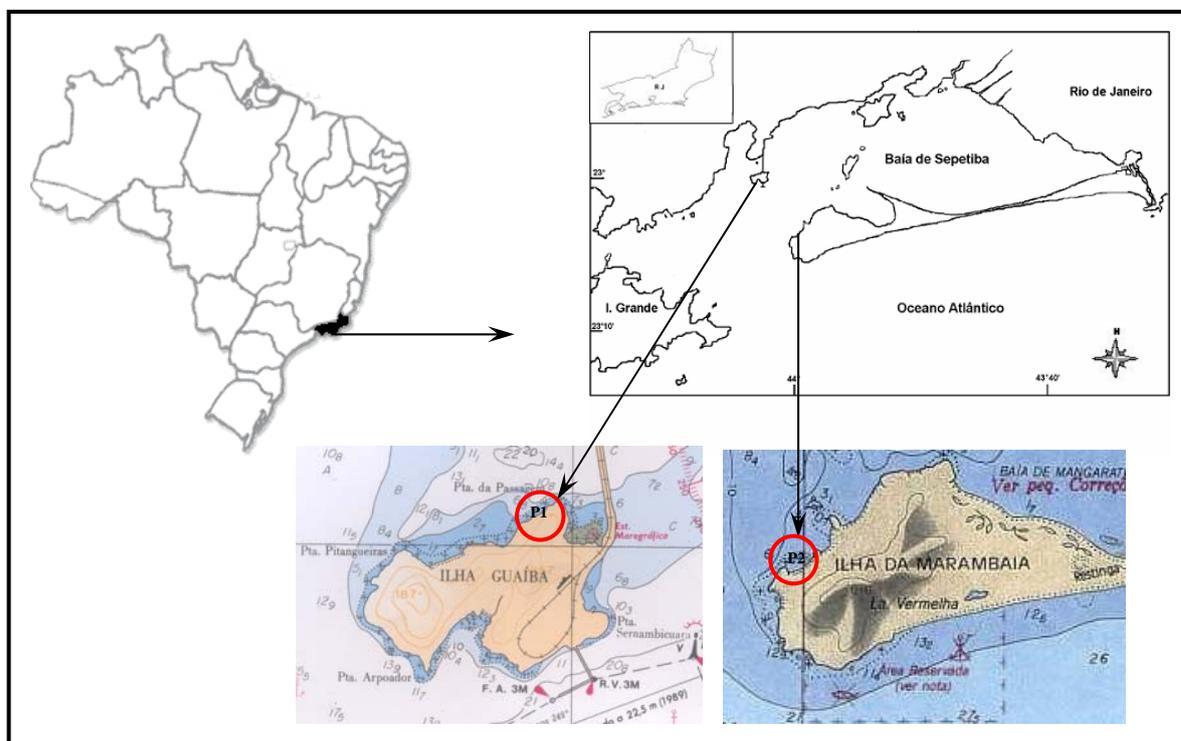


Figura 16. Área de Estudo: Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil, com indicação da localização dos pontos de coleta assinalados com um círculo. P1 - Ilha Guaíba e P2 - Ilha da Marambaía, município de Mangaratiba. Detalhes das cartas náuticas 1621 ER1, 2ª edição e 1607 ER1, 1ª edição. Diretoria de Hidrografia e Navegação da Marinha do Brasil. Escala 1:5000.



Figura 17. Fazenda marinha da AMAR, Ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ.



Figura 18. Banco natural de mexilhões (*Perna perna*) em Pescaria Velha na Ilha da Marambaía, baía de Sepetiba, RJ.

4.2 Coleta

Em 2007 foram realizadas três coletas-piloto (inverno, primavera e verão) na baía de Sepetiba com o objetivo de estabelecer os pontos de coleta (baseado na ocorrência e riqueza de macroalgas) e de realizar um levantamento preliminar das espécies bentônicas de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes na baía. A primeira coleta-piloto contemplou as Ilhas Guaíba, Duas Irmãs, Jaguanum, Itacuruçá e Marambaía. Destes pontos de coleta foram selecionados as Ilhas Guaíba e Marambaía, por serem os locais que apresentaram maior riqueza de táxons de macroalgas, por serem áreas de cultivo e de ocorrência de bancos naturais de mexilhões, e também por questões operacionais.

As amostras de dinoflagelados bentônicos selecionados de macroalgas (feofíceas, clorofíceas e rodofíceas) foram coletadas e quantificadas por um período amostral de um ano (janeiro de 2008 a dezembro de 2008) seguindo o procedimento proposto por BRAVO (informação verbal)³ e Reguera (2002). Durante este período 97 amostras de macroalgas foram coletadas. No mês de maio devido às condições do mar que se encontrava agitado e águas turvas não foi possível coletar os táxons de macroalgas em Pescaria Velha na Ponta da Marambaía.

4.2.1 Macroalgas

As macroalgas foram coletadas por servirem de substrato à ocorrência de dinoflagelados bentônicos epifíticos. Entretanto, a comunidade é dinâmica e a composição das espécies de macroalgas é muito variável ao longo do ano (CRUZ-RIVERA; VILLAREAL 2006). Por isso, durante o período amostrado foram coletados os táxons disponíveis mais representativos em cada época para cobrir o ciclo anual.

Os táxons de macroalgas foram coletados por espécie ou grupo, mensalmente, a uma profundidade de um metro por mergulho livre. Cada macroalga selecionada foi envolvida em bolsa de polietileno (ZIPLOCK[®]) para em seguida ser arrancada do seu substrato juntamente com a água que a envolvia. A embalagem foi então vedada para evitar a perda dos dinoflagelados epibentônicos e acondicionadas em caixa isotérmica para evitar a abertura dos sacos de polietileno durante o trajeto percorrido abrigado da luz.

4.2.2 Microalgas

Posteriormente as amostras de macroalgas eram transferidas para garrafas de polietileno (500 ml ou 1000 ml) e agitadas (um minuto) para remoção dos dinoflagelados epifíticos. O interior das bolsas de polietileno era lavado com 300ml de água do mar filtrada (MILIPORE 0,45 e 0,22 μm) e estéril (Ultra Violeta - UV) e o volume transferido para a garrafa. Em seguida a suspensão obtida foi passada por duas peneiras com malha de rede de 150 μm e 115 μm para remoção de detritos, sedimento e zooplâncton. Após a etapa anterior de limpeza a amostra era passada através de outra peneira com malha de rede de 20 μm para concentrar a fração de tamanho onde encontravam-se os dinoflagelados de interesse que foram concentrados em um volume de 250 ml e acondicionados em potes de polietileno com bartock. Antes da fixação com formaldeído a 5% uma alíquota de 2 ml era retirada para a observação das amostras vivas. A partir das amostras fixadas em formaldeído foram observadas e quantificadas 5 alíquotas com 2 ml cada.

Dependendo das condições de mar, as amostras eram processadas no próprio local de coleta ou no laboratório de Toxinas Marinhas (ToxMar) do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, mas sempre no mesmo dia de coleta.

4.2.3 Variáveis abióticas

Os fatores abióticos temperatura e salinidade foram medidos durante todo o período de amostragem (*in loco*) na profundidade de 1 metro. A temperatura e a salinidade foram medidas com o auxílio de termômetro acoplado a Garrafa Van-Dorn Alpha-Tecnoquímica com capacidade para 2 litros e um refratômetro Unity modelo RTS-101ATC, respectivamente. Estimou-se a penetração de luz na coluna d'água através da profundidade de desaparecimento do disco de Secchi.

³ Notícia fornecida por Isabel Bravo do Instituto Espanhol de Oceanografia, Vigo/Espanha, em janeiro de 2007.

4.3 Identificação e Quantificação dos Dinoflagelados Epibentônicos

Cada amostra, antes de ser fixada com formaldeído, tinha uma alíquota de 2ml retirada para a observação do material vivo sob microscopia de campo claro (microscópio invertido Nikon ECLIPSE TS 100F) para a observação da coloração e padrão de natação dos dinoflagelados. As células selecionadas eram capturadas por micromanipulação e fixadas em glutaraldeído (2,5% em tamp) (estocadas sob refrigeração) para realização de microscopia eletrônica de varredura na EMBRAPA AGROBIOLOGIA da UFRRJ para a identificação em nível de espécie. O volume restante da amostra (248 ml) era então fixado em formaldeído para posterior quantificação. Sob a luz da microscopia invertida, as espécies de interesse foram selecionadas com base nas características morfológicas descritas na literatura consultada. A MEV possibilitará a identificação em nível de espécie, cujas principais características observadas são: as diferenças da ornamentação das placas tecais quanto à forma e tamanho; estrutura dos poros e aureolas das valvas (forma, posição e número); detalhes da arquitetura da área periflagelar e da banda intercalar. A identificação seguirá o descrito por Fukuyo (1981), Steidinger e Tangem (1997) e Faust e Gullledge (2002).

Para a quantificação dos dinoflagelados retiravam-se alíquotas de 2,0 ml das amostras fixadas em formol a 5%, que eram acondicionadas em câmaras de sedimentação (Método de Uthermöl, 1958). Todo o campo da câmara de sedimentação foi contado sob microscopia ótica invertida, em campo claro e contraste de fase, no aumento de 100x. As células de interesse eram então fotografadas nos aumentos 200x e 400x com câmera digital KODAC EASYSHARE C613. Somente os dinoflagelados potencialmente nocivos presentes foram quantificados e identificados (5 alíquotas de cada amostra). A densidade celular dos dinoflagelados de interesse foi expressa em função do peso seco de macroalga (células.g⁻¹). A densidade celular dos dinoflagelados de interesse foi expressa em função do peso seco de macroalga (células.g⁻¹).

As células selecionadas por micromanipulação foram preparadas para a microscopia eletrônica de varredura (MEV). As células foram concentradas usando um filtro de Polipropileno (HOLDER MFS Advantec, 25 mm de diâmetro e membrana de 0,22 µm da MILIPORE) a temperatura ambiente. Em seguida, as membranas contendo as células concentradas foram rinsadas quinze vezes com água destilada e desidratadas em uma série graduada de etanol (30%, 50%, 70%, 90%, 95% e 100%) duas vezes, por 10 minutos cada etapa, respectivamente. Posteriormente, as membranas foram colocadas em um “*stub*” e levadas até o ponto crítico de secagem (Aparelho Ponto Critico da Bio Rad 172 bar 2500 psi.) sob fluxo de CO₂ por 60 minutos. A metalização foi feita com ouro-paládium (Aparelho Sputter coater SCD 50 da Bautech) e a observação será realizada em microscópio eletrônico de varredura, modelo STEREOSCAN CAMBRID 200. A partir das fotomicrografias, as células serão classificadas morfológicamente para a identificação taxonômica. A preparação das amostras para a MEV seguiu o descrito por Faust et al. (1996) com algumas modificações (etapa de rinsagem). Ressalta-se que por problemas operacionais no laboratório de MEV da EMBRAPA AGROBIOLOGIA/UFRRJ as fotomicrografias dos morfotipos isolados não foram realizadas.

4.4 Identificação das Macroalgas

As macroalgas foram acondicionadas nas garrafas de polietileno e fixadas com formaldeído a 4% em água do mar. Os táxons mais comuns foram identificados, ou ao menos tipados. Para a confirmação e a identificação dos táxons a nível específico ou genérico os exemplares foram encaminhados para o laboratório de botânica do Instituto de Biologia da UFRRJ. Para identificação foram utilizados bibliografias de floras como Joly (1965,1967), Cordeiro-Marino (1978), Széchy (1986) e quando necessário trabalhos específicos para determinados táxons, como De Paula (2007), Barata (2008), Cassano (2009). A identificação

foi realizada com o auxílio de microscópio óptico e estereoscópico, além de lâminas de barbear para realização de cortes anatômicos. A nomenclatura seguiu a adotada por Wynne (2005).

4.5 Análise Estatística

Para avaliar se houve variação significativa na densidade celular da comunidade de dinoflagelados potencialmente nocivos (variável células de dinoflagelado. g^{-1} de peso seco de macroalgas) espacial e temporal foi empregada a análise de variância bi-fatorial (ANOVA) sobre os dados com o auxílio do Programa GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Software, 1992-2007). A normalidade dos dados de densidade de dinoflagelados foi verificada através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett e houve necessidade de transformá-los por logaritimização ($\ln x$). Depois de efetuada a transformação os dados apresentaram distribuição normal o que permitiu a execução da análise de variância bi-fatorial.

Buscou-se verificar a ocorrência de um padrão de distribuição da variável densidade de dinoflagelados nos diferentes grupos de macroalgas agrupadas por pigmentos (feofíceas, clorofíceas e rodofíceas). Como para essa análise houve apenas uma variável (densidade dos dinoflagelados), compararam-se as densidades médias dos dinoflagelados nos diferentes grupos de macroalgas através de análise de variância simples. Também foi calculada a análise de variância para a densidade média de dinoflagelados (agrupados por gêneros) nos substratos mais frequentes de macroalgas (*Padina*, *Sargassum*, *Codium*, *Caulerpa* e *Laurencia*).

Em relação as variáveis abióticas de temperatura, salinidade, profundidade Secchi, as macroalgas amostradas e os dinoflagelados potencialmente nocivos identificados foi realizada uma análise multivariada (Análise de Redundância Canônica) de forma a evidenciar as relações existentes entre as variáveis físicas, bióticas e as espécies de interesse da pesquisa. Essa análise multivariada foi realizada no Programa CANOCO para Windows. Empregou-se uma análise de redundância canônica que utilizou uma matriz de variáveis faunísticas (dinoflagelados) e de variáveis previsoras (ambientais e macroalgas). A análise de redundância canônica partiu da premissa que as relações entre as distribuições dos organismos e o ambiente seguiram um modelo linear de resposta. A significância das variáveis previsoras foi testada através do modelo de permutação de Monte Carlo (9999 permutações). As variáveis significativas foram selecionadas para o modelo final e foram excluídas as não significativas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação dos Dinoflagelados

Com base na microscopia óptica invertida foram identificados 11 morfotipos de dinoflagelados pertencentes aos gêneros *Coolia*, *Prorocentrum* e *Ostreopsis* a partir de amostras coletadas nas duas áreas investigadas na baía de Sepetiba. Um destes morfotipos foi identificado ao nível de gênero (*Coolia*). Os demais morfotipos foram identificados ao nível de espécie, como *conferatum*. Todos os morfotipos foram encaminhados para a confirmação por MEV para a identificação específica, no entanto, devido a problemas operacionais no laboratório de MEV da Embrapa Agrobiologia da UFRRJ as fotomicrografias para confirmação em nível específico não foram realizadas.

Os morfotipos observados sob microscopia invertida entre os meses de janeiro a dezembro de 2008 nas Ilhas Guaíba e Marambaía encontram-se apresentados a seguir:

5.1.1 *Coolia* sp. (Meumier 1919)

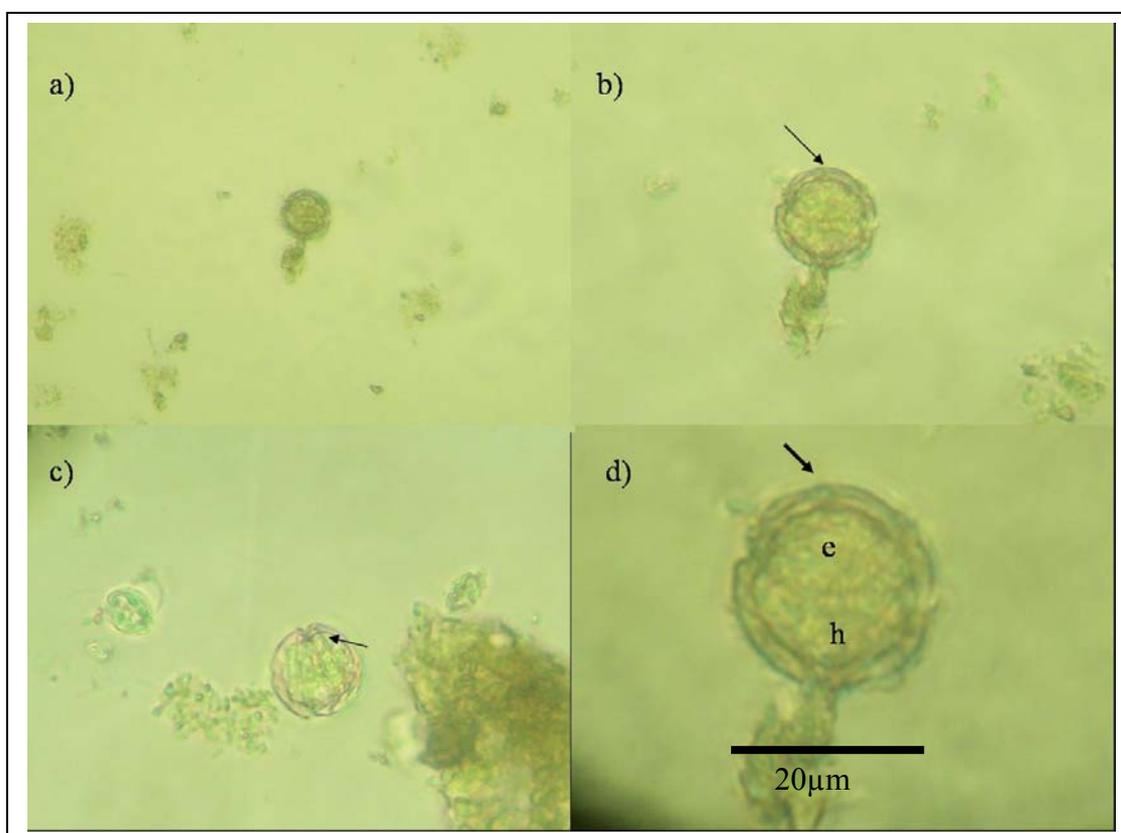


Figura 19. Fotomicrografias de *Coolia*, células em visão dorsal. a) Microscopia de campo claro, aumento de 100x. b) a mesma célula em aumento de 200x, assinalado o apex deslocado para a esquerda da célula. c) Célula em contraste de fase, aumento de 200x, assinalado a lista cingular. d) Célula em microscopia de campo claro, aumento de 400x, (e) epitheca e (h) hipotheca, assinalado o deslocamento do apex para a esquerda da célula.

O gênero *Coolia* compreende cinco espécies: *C. areolata*, *C. canariensis*, *C. monotis*, *C. malayense* e *C. tropicalis* (GOMES, 2005; CEDIT, 2009a). Segundo a Lista Taxonômica de Microalgas Nocivas do IOC considera-se apenas *C. monotis* como potencialmente tóxica (MOESTRUP, 2009).

Dolapsakis et al. (2006) encontraram a espécie *C. monotis* procedente do mar Mediterrâneo idêntica em tamanho e forma (fenótipo) às linhagens da Noruega e Nova

Zelândia. No entanto genotipicamente a linhagem mediterrânea foi distinta das demais, sendo não tóxica. Concluem que *C. monotis* apresenta grande variabilidade intraespecífica quanto à capacidade para produção de toxinas. Nos estudos conduzidos por Penna et al. (2005) a caracterização de isolados desta espécie, também oriunda do Mar Mediterrâneo, não foi tóxica após os testes de toxicidade. Enquanto as análises de sequência nucleotídica revelaram que as cepas isoladas na Europa pertenciam a um mesmo clado, no entanto, a diversidade genética foi muita elevada entre as cepas isoladas na Europa e na Ásia.

Sinônimos: *Ostreopsis monotis* (Meunier) Lindemann, 1928; *Glenodinium* (Meunier) Biecheler, 1952.

Espécie tipo: *Coolia monotis*

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético com muitos cloroplastos marrom dourado, marinho, bentônico e epífito, mas que também podem habitar o domínio planctônico. O gênero possui ampla distribuição em águas temperadas e tropicais, podendo ocorrer em águas costeiras e marinhas. Relata-se como efeito nocivo associado à *C. monotis* a produção de cooliatoxina, uma neurotoxina análoga a Yessotoxina (STEIDINGER; TANGEN 1997; MOESTRUP, 2009).

Descrição taxonômica: Os morfotipos observados na microscopia invertida apresentaram as células pequenas, redondas e comprimidas. A célula apresentou a epiteca menor que a hipoteca e também foi visível o deslocamento do APEX para a direita na epiteca.

Na literatura, as células de *Coolia monotis* são ligeiramente comprimidas anterior-posteriormente em visão apical e antapical. São redondas, em forma de lente, cuja epiteca e a hipoteca são claramente diferentes em tamanho. A célula pode variar de 25 a 45 µm de diâmetro e 30 a 50 µm de comprimento. A teca é lisa e coberta com poucos e grandes poros tecais e marginais (cíngulo) dispersos. O que diferencia uma espécie da outra é a ornamentação das placas sobre a epiteca e hipoteca cuja forma, número e posição são usados como características taxonômicas (Tabulação Po, 3' (4'), 7'' (6''), 6c, ≥6s, 5''', 1p, 2''''', Vp entre 1'' e 7''), e a forma e o tamanho do poro apical (Po) que pode ser observado sob a microscopia invertida (FUKUYO, 1981; PENNA et al., 2005). As espécies pertencentes aos gêneros *Coolia* e *Ostreopsis* apresentam similaridades e diferenças morfológicas, principalmente quanto à arquitetura do Po, que podem ser distinguíveis a base da MEV (FUKUYO, 1981; PENNA et al., 2005).

5.1.2 *Prorocentrum arenarium* (Faust 1994)

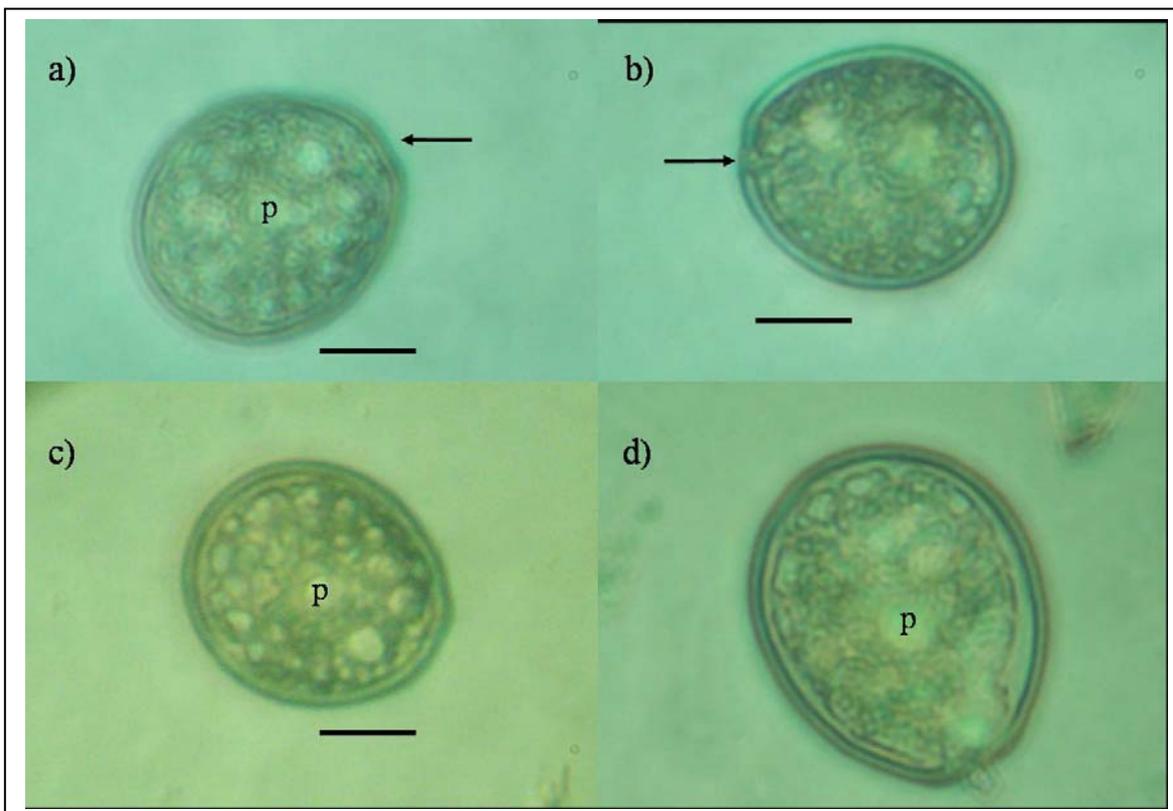


Figura 20. Fotomicrografias de *Prorocentrum* cf. *arenarium* células em visão valvar. a) Valva esquerda, assinalando a região anterior, retilínea. b) Valva direita, assinalada a pequena indentação localizada na região anterior da valva (área do complexo de placas dos poros periflagelares). c) célula repleta de estruturas semelhantes a vacúolos alimentares, com pirenóide central visível (p). d) Célula em aumento de 400x, pirenóide central visível (p) e poros ornamentais cobrindo toda a valva. Demais fotos em aumento de 200x. Escala = 10µm.

Características gerais: Dinoflagelado marinho, bentônico, epífito e tecado. Encontrado em ambientes tropicais do Mar do Caribe e do Oceano Índico, principalmente associado a areia, corais e detritos. Esta espécie é tóxica, um produtor de AO que causa DSP em humanos após o consumo de moluscos contaminados com ficotoxinas (FAUST, 1994; TEN-HAGE et al., 2000).

Descrição taxonômica: Os morfotipos de *P.* cf. *arenarium* foram observados em visão valvar apresentando forma ovóide, côncavas no centro da valva, com pirenóide visível (Figura 20, itens a, c e d). Na região apical, a célula apresentou uma discreta indentação (Figura 20, item b), correspondente à área periflagelar com um formato triangular sobre a valva direita.

Na literatura as células de *P. arenarium* quando observadas em visão valvar apresentam-se redondas à ligeiramente ovais. A célula mede entre 30 a 32 µm de diâmetro. A superfície da valva é lisa com poros (65 a 73 poros por valva) distintos (forma de rim ou oblongos) e distribuídos aleatoriamente sobre a valva, sendo ambas desprovidas de poros no centro e ligeira concavidade. Os poros marginais (50 a 57 poros por valva) são semelhantes aos poros valvais em tamanho, distribuídos de maneira uniforme sobre a valva. Os poros marginais podem ser facilmente observados a luz do microscópio óptico, constituindo uma característica diagnóstica importante para a identificação desta espécie. A área periflagelar está localizada na porção anterior da valva direita, é simples, pequena, escavada com um formato triangular e possui poros (flagelar e auxiliar) de tamanhos distintos. Uma pequena

estrutura, um pedúnculo (tubular) foi observado por Faust (1994) emergindo do poro flagelar, indicando possivelmente alimentação mixotrófica. A valva esquerda apresenta a margem anterior reta e a banda intercalar é larga e suave.

P. arenarium pode ser confundido com outras espécies bentônicas de *Prorocentrum* quanto a sua forma (*P. emarginatum* e *P. ruetzlerianum*), no entanto, diferencia-se quanto ao seu tamanho, por exemplo, *P. arenarium* é menor do que *P. emarginatum* (diâmetro 35-40 μm) e maior do que *P. ruetzlerianum* (diâmetro 28 a 35 μm). Quanto à forma, tamanho e número de poros, *P. arenarium* diferencia-se das outras espécies bentônicas, sendo este caractere usado como uma característica diagnóstica para a sua identificação. Por exemplo, em *P. lima* a superfície da valva possui de 58 a 86 poros e de 55 a 72 poros marginais (diâmetro de 0,3 a 0,7 μm); em *P. maculosum* de 85 a 90 poros valvais e 65 a 75 poros marginais (diâmetro de 0,6 μm); em *P. arenarium* de 65 a 73 poros valvais e de 50 a 57 poros marginais (diâmetro de 0,6 a 0,3 μm). No entanto, a sua banda intercalar apresenta ornamentações (larga e suave) semelhantes como a de outras espécies bentônicas, como *P. lima*, *P. hoffmannianum* e *P. foraminosum* (MOESTRUP, 2009).

5.1.3 *Prorocentrum balticum* (Lohmann) Loeblich III 1970



Figura 21. Fotomicrografia de *Prorocentrum* cf. *balticum* em visão valvar direita. Microscopia de campo claro, aumento de 400x. Assinalado os dois pequenos espinhos anteriores. Escala = 10 μm .

Descrição geral da espécie: Dinoflagelado fotossintético, marinho, planctônico, tecado e formador de floração. Amplamente distribuído no mundo, encontrado em águas marinhas frias, temperadas e tropicais de ambientes neríticos e oceânicos. Até o momento a sua toxicidade não foi confirmada, no entanto, esta espécie tem sido associada com florações tóxicas (STEINDINGER; TANGEN 1997).

Descrição taxonômica: Em visão valvar, os morfotipos de *P. cf. balticum* variaram de redondos a esféricos apresentando dois espinhos apicais de tamanho pequeno.

De acordo com a literatura, as células são inferiores a 20 μm de diâmetro e ovóides em visão valvar com duas distintas projeções apicais localizadas na margem da área periflagelar. A superfície da valva é coberta por diminutos espinhos interligados e também por poros em forma de aro dispersos sobre a valva. A área periflagelar é pequena e apresenta dois poros de tamanhos diferentes e duas projeções apicais. A banda intercalar é larga e estriada transversalmente. Apesar de *P. balticum* e *P. minimum* apresentarem características morfológicas muito semelhantes (tamanho, poros e espinhos e área periflagelar), *P. balticum*

distingue-se no tamanho e pelas duas pequenas projeções na parte anterior da valva (STEINDINGER; TANGEN 1997).

5.1.4 *Prorocentrum concavum* (Fukuyo 1981)

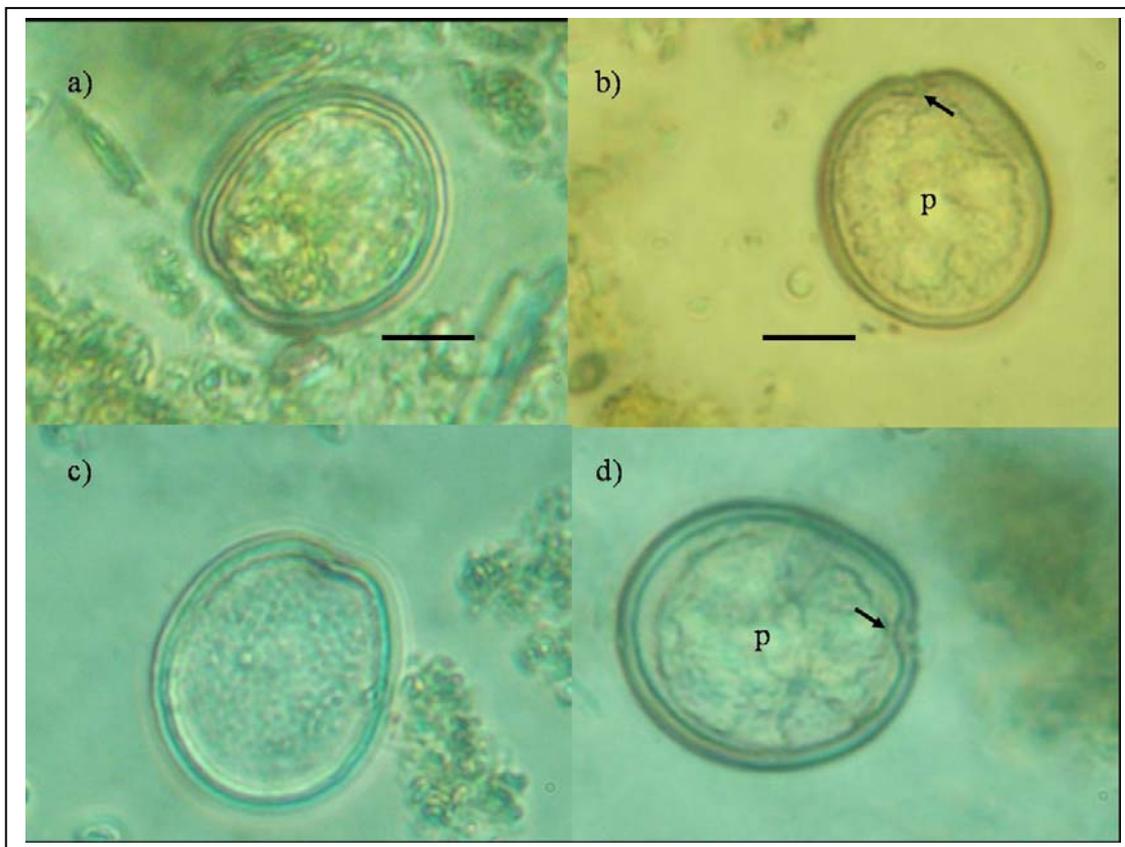


Figura 22. Fotomicrografias de *Prorocentrum* cf. *concavum* em visão valvar. a) célula em formato ovalado quase em visão posterior. b) Valva direita, assinalada a indentação onde se localiza a área periflagelar, pirenóide (p) central visível; margem anterior da valva esquerda, menos escavada, visível por trás da valva direita. c) teca vazia, coberta de aureolas. d) Célula em aumento de 400x assinalando a indentação na região anterior e pirenóide central. As demais fotomicrografias em aumento de 200x. Escala = 10 μ m.

Sinônimo: *P. arabianum* Morton et Faust 2002 (MOHAMMAD-NOOR et al., 2007).

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético que apresenta cloroplastos marrons dourado, marinho, bentônico, porém também pode apresentar comportamento ticoplanctônico, e tecado. Comumente encontrado associado a detritos e sedimentos em águas tropicais e neríticas (STEINDINGER; TANGEN 1997). Espécie conhecida por produzir toxinas de ação rápida (*Fast Acting Toxins* - FAT), AO e DTX, e um composto ainda desconhecido (TINDALL et al., 1984; TINDAL et al., 1989; DICKEY et al., 1990; HU et al., 1993; QUOD et al., 1995).

Descrição taxonômica: As células tipadas como *P. cf. concavum* apresentaram-se repletas de cloroplastos, com formato ovóide, centro da valva côncavo e achatado, área periflagelar com pequena indentação em forma de V e sem espinhos (Figura 22, item a-d).

De acordo com a literatura as células podem medir 50 a 55 μ m de comprimento e 38 a 45 μ m de largura. A valva é coberta com auréolas (1000 a 1100 por valva) cuja forma pode variar de redonda a oval, com um poro central (0,8 μ m de diâmetro). Ambas as valvas não possuem auréolas no centro, mas somente a valva direita é profundamente côncava. Poros marginais ausentes. A banda intercalar é estriada horizontalmente e granulada. Na porção

anterior da célula, a área periflagelar apresenta uma indentação em forma de V sobre a valva direita. Esta região é composta por oito placas diminutas, um grande poro flagelar e não possui espinhos. A valva esquerda é ligeiramente indentada (FUKUYO, 1981; FAUST, 1990).

É difícil diferenciar *P. concavum* das demais espécies de *Prorocentrum* com base somente na microscopia invertida devido à semelhança da sua forma e tamanho com as outras espécies de *Prorocentrum*, como por exemplo: *P. lima*, *P. holffmannianum*, *P. belizeanum* e *P. tropicalis*. Com base na MEV as diferenças entre estas espécies são bem evidenciadas, como por exemplo, *P. lima* não apresenta aureolas na superfície da sua valva, apenas poros marginais; *P. holffmannianum* e *P. belizeanum* apesar de apresentar auréolas com a mesma localização e disposição que *P. concavum*, estas duas espécies se diferenciam por apresentar um número menor de auréolas (670 e 950 por valva, respectivamente), além da presença de poros marginais, como em *P. lima*; *P. concavum* é semelhante a *P. tropicalis* por apresentar a banda intercalar com o mesmo tipo de ornamentação (MOESTRUP, 2009).

5.1.5 *Prorocentrum emarginatum* (Fukuyo 1981)



Figura 23. Fotomicrografias de *Prorocentrum* cf. *emarginatum* em visão valvar. a) Célula em aumento de 100x, valva direita. b) Célula em aumento de 200x, valva esquerda. c) Célula em aumento de 400x, valva direita; assinalada a profunda indentação na região anterior, onde se localiza a área periflagelar. d) Célula em aumento de 400x, valva esquerda; assinalada a indentação menos pronunciada na região anterior da célula. Escala = 10µm.

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético com cloroplastos marrons dourados e núcleo localizado na região posterior da célula. Marinho, bentônico e epifítico, também podendo apresentar comportamento ticoplactônico, tecado. Encontrado associado com sedimentos, corais, detritos flutuantes e macroalgas em águas tropicais e temperadas (de clima quente) (FUKUYO, 1981; FAUST, 1990). Não é tóxico, no entanto, as células isoladas no

Sudoeste do Oceano Índico apresentaram baixa atividade hemolítica e fibroblástica. Nas células isoladas em Belize não foi constatada a sua toxicidade (FUKUYO, 1981; FAUST, 1990; MORTON et al., 2000).

Descrição taxonômica: As células tipadas como *P. cf. emarginatum* foram observadas em visão valvar apresentando um formato que variou de ovóide a redondo. A parte anterior da valva apresentou-se profundamente indentada ou escavada em ambas as valvas. O centro da valva apresentou-se côncavo e não foi observado um pirenóide (Figura 23, a, b, c e d).

De acordo com a literatura as células podem variar o seu tamanho de 35 a 40 μm de comprimento. A valva é lisa e coberta por dois poros de tamanhos diferentes: pequenos (0,1 μm de diâmetro) e grandes (0,2 μm de diâmetro). Nas margens das valvas, os poros são arredondados. Os poros grandes (200 por valva) estão dispostos radialmente em fileiras ou linhas dispostos da periferia da valva para o centro. Os poros pequenos estão dispersos de forma desigual sobre a valva. No centro da valva não é observado a presença de poros e nem pirenóides. A área periflagelar está localizada na valva direita que é profunda, estreita e em forma de V. Esta depressão mede cerca de 10 μm de comprimento. A valva esquerda é escavada e curva ao longo da margem apical. Em visão apical as células são ligeiramente cônicas. A banda intercalar apresenta-se lisa e estriada transversalmente (FUKUYO, 1981; FAUST, 1990).

Alguns autores relatam que as células de *P. emarginatum* assemelham-se as células de *P. lima* e *P. concavum* quando observada em visão lateral (perfil), no entanto, são perfeitamente distinguíveis por apresentarem uma profunda e ampla indentação na parte apical da valva e pela presença de uma placa retangular na área periflagelar. *P. sculptile* também apresenta uma profunda indentação em forma de V na extremidade apical da valva direita, porém, a sua placa periflagelar é fina e inclinada, distinguindo de *P. emarginatum* cujas placas são retangulares e rígidas. Outras diferenças relacionadas às células de *P. sculptile* são: as células são menores (30-37 μm), a valva rugosa com depressões que variam de ovais a redondas, distribuídas de maneira uniforme na superfície da célula, além da presença de um pirenóide (MOESTRUP, 2009).

5.1.6 *Prorocentrum gracile* (Schütt 1895)

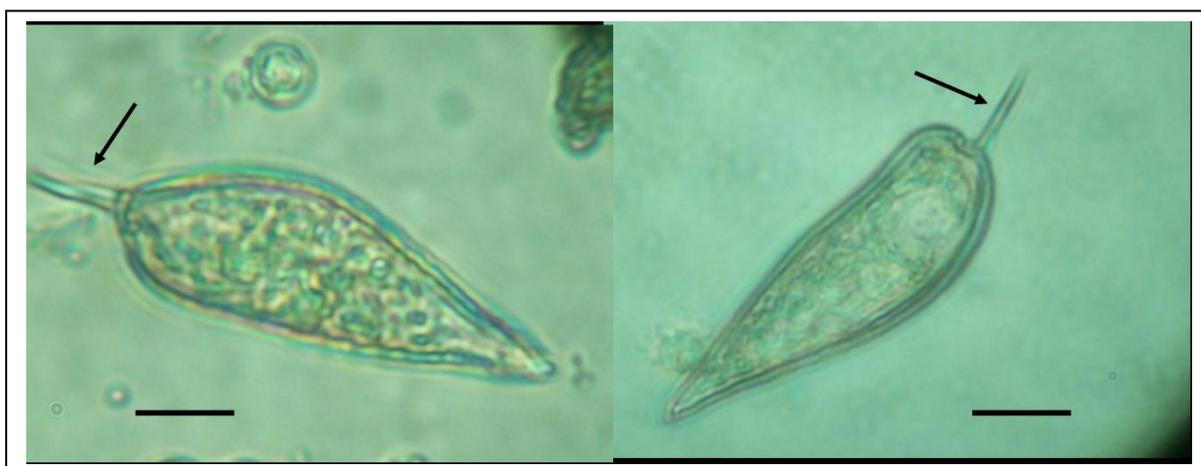


Figura 24. Fotomicrografias de *Prorocentrum gracile* (= *P. sigmoides*) em aumento de 200x. a) Microscopia de contraste de fase, valva esquerda ornamentada com poros grandes, assinalado espinho longo. b) Valva direita exibindo em sua região anterior discreta indentação onde se localiza a área periflagelar; assinalado o longo espinho anterior. Escala = 10 μm .

Sinônimos: *P. hentsschellii* Schiller 1933 (STEIDINGER; TANGEN 1997), *P. sigmoides* Böhm 1933 (COHEN-FERNANDEZ et al., 2006).

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético com um par de cloroplastos laterais, marinho, planctônico, tecado. Amplamente distribuído no mundo, e encontrado em ambientes neríticos e oceânicos de climas temperados e tropicais (STEINDINGER; TANGEN 1997). Esta espécie não é tóxica (COHEN-FERNANDEZ et al., 2006).

Descrição taxonômica: os morfotipos observados em visão valvar apresentaram a célula alongada, em forma de folha ou lanceolada, como em *P. micans*. Porém menos ampla na largura e mais longa no comprimento. Na extremidade anterior da célula foi observada a presença de um grande espinho apical (Figura 24, itens a,b).

Na literatura, as células são alongadas e podem medir entre 56 a 96 μm de comprimento e 16 a 32 μm de largura. O comprimento sem o espinho apical varia de 48 a 80 μm . A extremidade anterior se apresenta arredondada enquanto a porção posterior é pontuda. A largura é na maioria das vezes menor do que a metade do comprimento celular. A superfície da valva é coberta por poros rasos que estão dispostos em fileiras perpendiculares, como em *P. micans*. Na porção anterior da célula, junto à área periflagelar, presença de um espinho longo com membrana (alado), e na porção posterior um pequeno dente, chamado mucron pode estar presente (STEINDINGER; TANGEN 1997; COHEN-FERNANDEZ et al., 2006).

5.1.7 *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge 1975

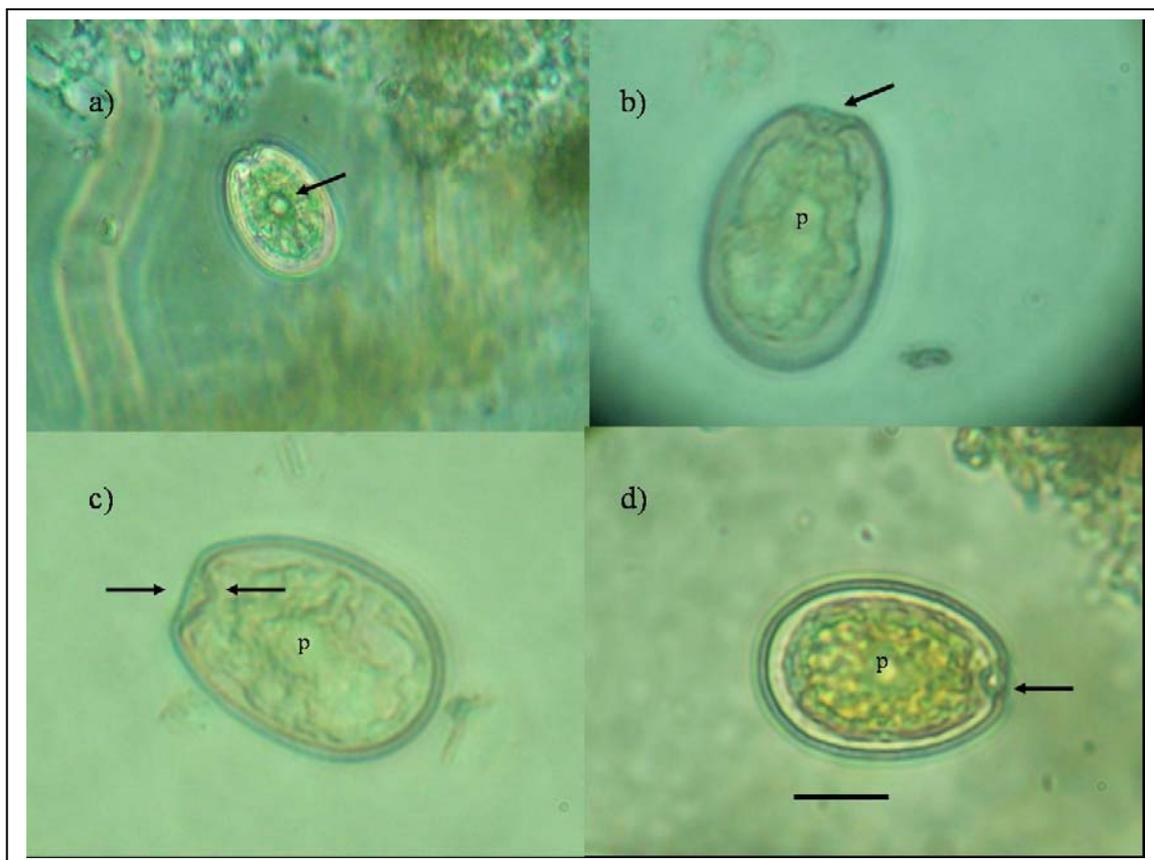


Figura 25. Fotomicrografia de *Prorocentrum* cf. *lima* em visão valvar. a) Célula em aumento de 100x, microscopia de contraste de fase, assinalado o pirenóide central. b) Valva direita mostrando a indentação localizada na parte anterior (área periflagelar) e pirenóide central (p); microscopia de campo claro em aumento de 400x. c) Valva direita assinalando a indentação onde se localiza a área periflagelar e por trás a parte anterior da valva esquerda reta; pirenóide central (p); microscopia de campo claro em aumento de 400x. d) Valva direita em microscopia de contraste de fase, aumento de 200x. Escala = 10 μm .

Sinônimo: *Exuviaella marina* Cienkowski 1881; *E. lima* Ehremerg Bütschli 1885; *E. marina* var. *lima* Ehremerg Schiller 1933 (STEIDINGER; TANGEN 1997).

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético, marinho, bentônico e epifítico, podendo ser ticoplanctônico, tecado. Amplamente distribuído em águas neríticas e estuarinas de regiões tropicais e temperadas. Encontrado associado principalmente com corais, areia, detritos bentônicos e flutuantes de ambientes de manguezais, e epifitando macroalgas. *P. lima* é conhecido por produzir substâncias tóxicas, como: toxinas de ação rápida (FAT), prorocontrolides; e toxinas DSP (AO, DTX-1, DTX-2 e DTX-4) (TINDALL et al., 1984; TORIGOE et al., 1988; LEE et al., 1989; HU et al., 1993; MURAKAMI et al., 1982; DELGADO et al., 2005; GOMES, 2005).

Descrição taxonômica: os morfotipos observados apresentaram em visão valvar células ovais ou ovóides, praticamente iguais em largura ao longo do eixo antero-posterior, um grande pirenóide observado no centro da valva direita, valva direita indentada em forma de V (área periflagelar) e a margem da valva esquerda apresentando-se reta (Figura 25, item c).

De acordo com a literatura as células podem variar seu tamanho entre 30 a 40 µm de comprimento e 26 a 30 µm de largura. A superfície da teca é suave com a presença de poros valvais e marginais. Cada valva pode conter 80 poros marginais (pequenos) distribuídos de maneira uniforme ao longo da periferia da valva (0,6 µm de diâmetro) e 100 poros tricocísticos (redondos a oblongos), de maior tamanho, irregularmente dispersos sobre a valva (0,48 µm de diâmetro). O centro da valva não possui poros, mas apresenta um pirenóide. Na porção anterior da célula, em ambas as valvas, uma ligeira indentação pode ser visivelmente observada. Sobre a valva direita, a indentação é rasa, triangular e em forma de V onde localiza-se a área periflagelar (Figura 25, item c). Esta região é composta por oito placas e dois poros (flagelar e auxiliar), sem espinho apical, mas com uma protusão apical, tipo um colarinho, que circunda o poro auxiliar. A parte anterior da valva esquerda pode apresenta-se reta a ligeiramente curvada e a banda intercalar é espessa e lisa (STEINDINGER; TANGEN 1997).

P. lima pode ser distinguido de outras espécies de *Prorocentrum* pela sua forma, tamanho, área periflagelar e a presença de poros valvais e marginais. No entanto, a sua forma ovóide é muito semelhante à de outras espécies, como *P. foraminosum*, *P. concavum* e *P. hoffmannianum*. *P. concavum*, porém, é maior, mais amplo, tem mais poros valvais e não tem poros marginais. *P. foraminosum* e *P. hoffmannianum* também são maiores no tamanho, o número, a forma e o arranjo dos poros valvais também são diferentes, por exemplo, em *P. hoffmannianum*, a superfície da valva é coberta por aureolas. Em *P. lima* a presença de poros marginais é considerada uma característica diagnóstica que permite diferencia-lo de outras espécies aureoladas de *Prorocentrum*, como por exemplo, o *P. concavum* (STEIDINGER; TANGEN 1997; MOESTRUP, 2009).

5.1.8 *Prorocentrum mexicanum* (Tafall, 1942)

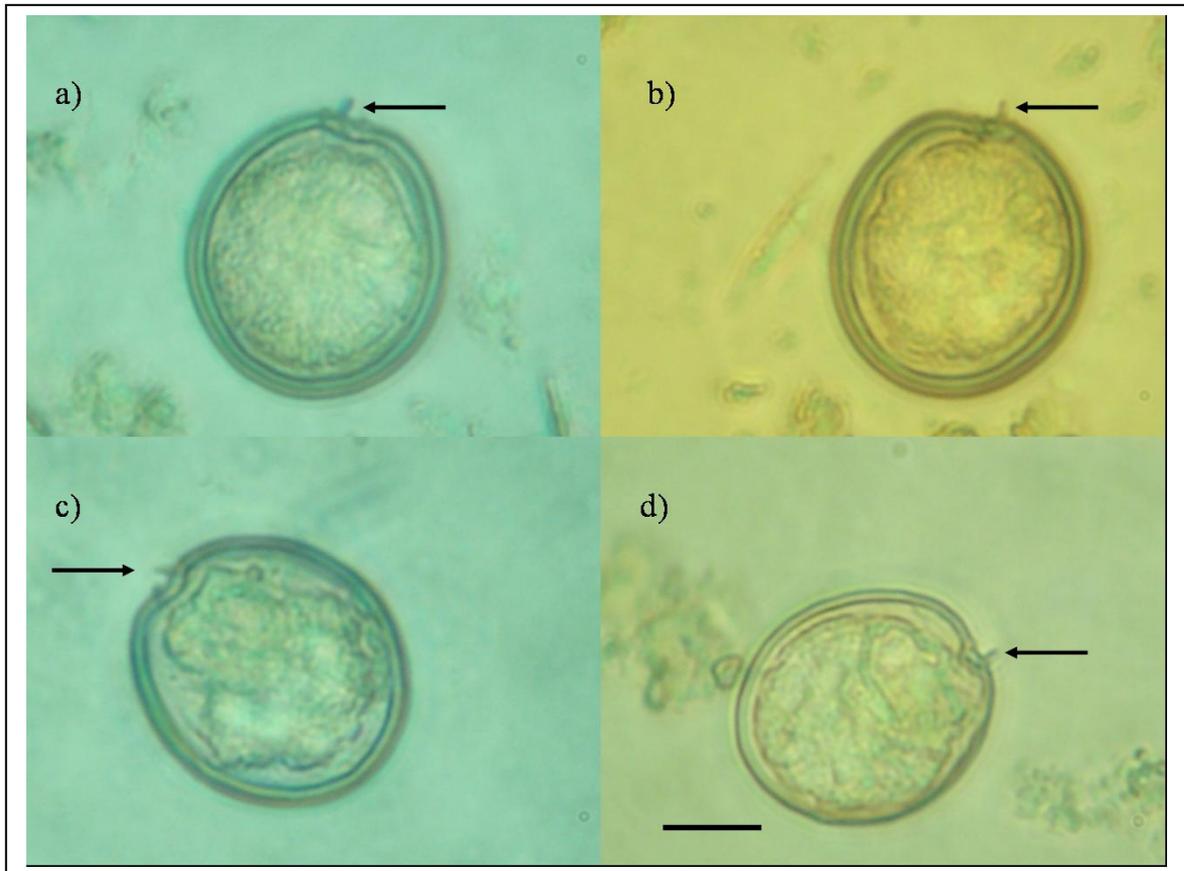


Figura 26. Fotomicrografias de *Prorocentrum cf. mexicanum* em visão valvar, microscopia de campo claro. a) Valva esquerda, em aumento de 400x, com pequeno espinho anterior. b) Valva direita, em aumento de 400x, região anterior mostrando discreta indentação onde se localiza a área periflagelar e, assinalado o pequeno espinho anterior. c) idem ao item anterior, com a discreta indentação mais visível. d) Valva direita, em aumento de 200x, discreta indentação em forma de v, com espinho anterior. Escala = 10 μ m.

Sinônimo: *P. maximum* Schiller 1937; *P. rhathymum* Loeblich, Sherley e Schmidt 1979.

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético com cloroplastos marrom dourado e núcleo localizado na porção posterior da célula. Marinho, bentônico, mas que pode apresentar comportamento ticoplanctônico, tecado. Comumente encontrado em ambientes tropicais e subtropicais rasos de comunidades bentônicas, onde a célula pode nadar livremente ou epifitar detritos e macroalgas (STEIDINGER; TANGEN 1997). É um produtor de toxinas FAT (TINDALL et al., 1984).

Descrição taxonômica: Os morfotipos de *Prorocentrum cf. mexicanum* observados em visão valvar apresentaram as células com um formato ovóide, presença de cloroplastos, e na parte apical da célula, na área periflagelar, a presença de um espinho (Figura 26, a, b, c e d).

Na literatura as células podem medir de 30 a 38 μ m de comprimento e 20 a 25 μ m de largura, com forma subovada e convexa em visão lateral. A superfície da valva é suave nas células jovem e rugosa nas células velha. Ambas as valvas apresentam poros tricósticos redondos (100 por valva) e poros marginais (80 por valva) que estão localizados radialmente em depressões rugosas. Os poros tricósticos podem ser ejetados pela célula. Essa organela apresenta estruturas pontiagudas que são acionadas por contato. O centro da célula não possui poros. A área periflagelar está localizada na valva direita e apresenta uma pequena indentação em forma de V (Figura 26, item d) com um proeminente colar apical curvado (espinho), uma

pequena protuberância da placa apical, próximo ao poro auxiliar. A banda intercalar é estriada transversalmente (STEINDINGER; TANGEN 1997).

Quando observados a luz da microscopia invertida, *P. mexicanum* pode ser confundido com *P. caribaeum* quanto à forma da célula, no entanto, este último dinoflagelado apresenta um maior tamanho, além de ser mais amplo na porção anterior da célula, como um coração. Os poros tricocísticos também são semelhantes quanto à forma, mas distinguem-se quanto ao número presente sobre a superfície da valva, onde *P. caribaeum* apresenta de 145 a 243 poros tricocísticos por valva, enquanto *P. mexicanum* aproximadamente 100 poros tricocísticos por valva. A área periflagelar, a disposição das diminutas placas e a banda intercalar também são idênticas nestas duas espécies (FAUST, 1990).

5.1.9 *Prorocentrum micans* (Ehrenberg 1834)

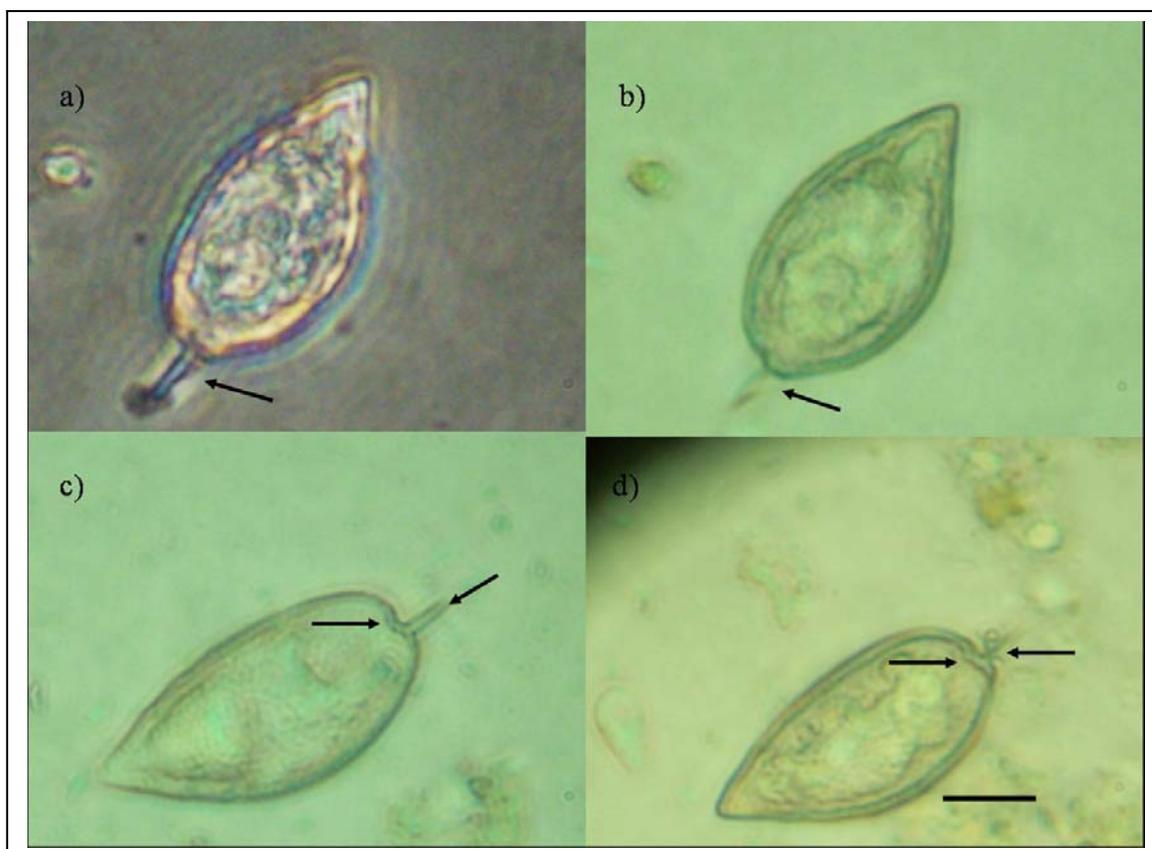


Figura 27. Fotomicrografias de *Prorocentrum micans*. a) Célula em contraste de fase, aumento de 400x, assinalado o espinho alado de grande tamanho. b) A mesma célula em microscopia de campo claro; a membrana do espinho alado visível. c) Valva direita, microscopia de campo claro, aumento de 400x; assinalado o espinho e a discreta indentação onde se localiza a área periflagelar; observar a ornamentação da valva coberta uniformemente por poros de grande tamanho. d) célula em aumento de 200x; valva direita exibindo espinho, um dos flagelos e indentação na região anterior (área periflagelar). Escala = 10µm.

Sinônimo: *P. schilleri* Böhm 1933; *P. gibbosum* Schiller 1929; *P. levantoides* Bursa 1959; *P. pacificum* Wood 1963 (GOMES, 2005).

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético com dois cloroplastos, um núcleo e dois vacúolos. Marinho, plactônico, tecado e formador de grandes florações em várias partes do mundo. Encontrado em águas de climas temperados e tropicais, de ambientes estuarinos, neríticos e oceânicos. Uma das espécies mais comuns do gênero *Prorocentrum* (STEINDINGER; TANGEN 1997).

Na década de 50 foi associado à produção de toxinas paralisante, fato em seguida analisado e não confirmado (PINTO; SILVA, 1956 apud MOESTRUP, 2009). Na década de 60, na Holanda, esta espécie foi associada (devido à sua alta abundância) à contaminação de moluscos que produziram um surto diarréico, sendo em seguida o surto associado à *Dinophysis acuta* (PROENÇA et al., 1999). *P. micans* é uma espécie formadora de floração associada à mortalidade de peixes devido à depleção de oxigênio em função da elevada concentração celular e não devido à produção de substâncias com efeitos tóxicos (GRANELI et al., 1990; COHEN-FERNANDEZ et al., 2006).

Descrição taxonômica: os morfotipos de *P. micans* observados em visão valvar apresentaram forma e tamanho variáveis. No geral, célula em forma de folha (laceolada), sendo que mais arredondada na porção anterior, afilada na porção posterior e, mais ampla na largura (Figura 27, itens a-d). Na porção anterior da valva presença de um espinho apical alado bem marcante (Figura 27, item b).

De acordo com a literatura as células podem medir de 35 a 70 μm de comprimento (sem o espinho apical) e 20 a 50 μm de largura. Em visão valvar as células são mais amplas em sua largura, em forma de coração ou gota, porém mais arredondadas anteriormente e pontiagudas posteriormente. Apresenta um espinho apical alado bem desenvolvido (10 μm de comprimento) que está localizado adjacente a área periflagelar. A superfície da valva é rugosa e coberta com poros tricocísticos que estão dispostos em fileiras perpendiculares na borda da valva. Na região apical, sobre a valva direita, está localizada a área periflagelar que é pequena e rasa, indentação em forma de triângulo, dois poros (flagelar e auxiliar) e uma placa periflagelar curvada. A banda intercalar é grande (STEIDINGER; TANGEN 1997; COHEN-FERNANDEZ et al., 2006).

Quanto à forma geral, *P. micans* pode ser naturalmente confundido com outras espécies relacionadas, como, *P. gracile*, *P. scutellum* e *P. caribaeum*. No entanto, *P. gracile* é maior no comprimento e menos amplo em sua largura, além de apresentar um espinho apical bem pronunciado; *P. scutellum* e *P. caribbaeum* são do mesmo tamanho que *P. micans*, porém o primeiro apresenta um espinho apical menor e o segundo apresenta a sua porção anterior muito mais ampla. *P. micans* é mais amplo na largura (FAUST, 1993 apud MOESTRUP, 2009).

5.1.10 *Ostreopsis* spp. (Schmidt 1901)

O gênero compreende nove espécies: *O. belizeanus*, *O. caribbeanus*, *O. heptagona*, *O. labens*, *O. lenticularis*, *O. marinus*, *O. mascarenensis*, *O. ovata* e *O. siamensis* (GOMES, 2005; CEDIT, 2009b). Segundo a lista taxonômica de algas nocivas do IOC quatro espécies são consideradas potencialmente toxígenas: *O. lenticularis*, *O. mascarenensis*, *O. ovata* e *O. siamensis* (MOESTRUP, 2009). Entretanto, Faust e Gullledge (2002) citam também *O. heptagona* como toxígena.

Neste estudo duas morfoespécies foram observadas e identificadas como *Ostreopsis* sp1 e *Ostreopsis* sp2 com base na forma e nas relações entre o comprimento total da célula e seu transdiâmetro (Figuras 28 e 29). As células apresentaram de tamanho médio a grande (STEIDINGER; TANGEN 1997). No geral, a teca apresentou forma de gota ou lágrima sendo afilada na região ventral. *Ostreopsis* sp1 foi visivelmente mais longa no comprimento (mais que o dobro do seu transdiâmetro) e menos ampla em sua largura na região dorsal (Figura 28, a, b, c e d), enquanto *Ostreopsis* sp2 mostrou-se mais ampla em seu transdiâmetro do que no seu comprimento (Figura 29, a, b, c e d). A epiteca e a hipoteca não apresentaram diferenças no seu tamanho em ambas as formas identificadas.

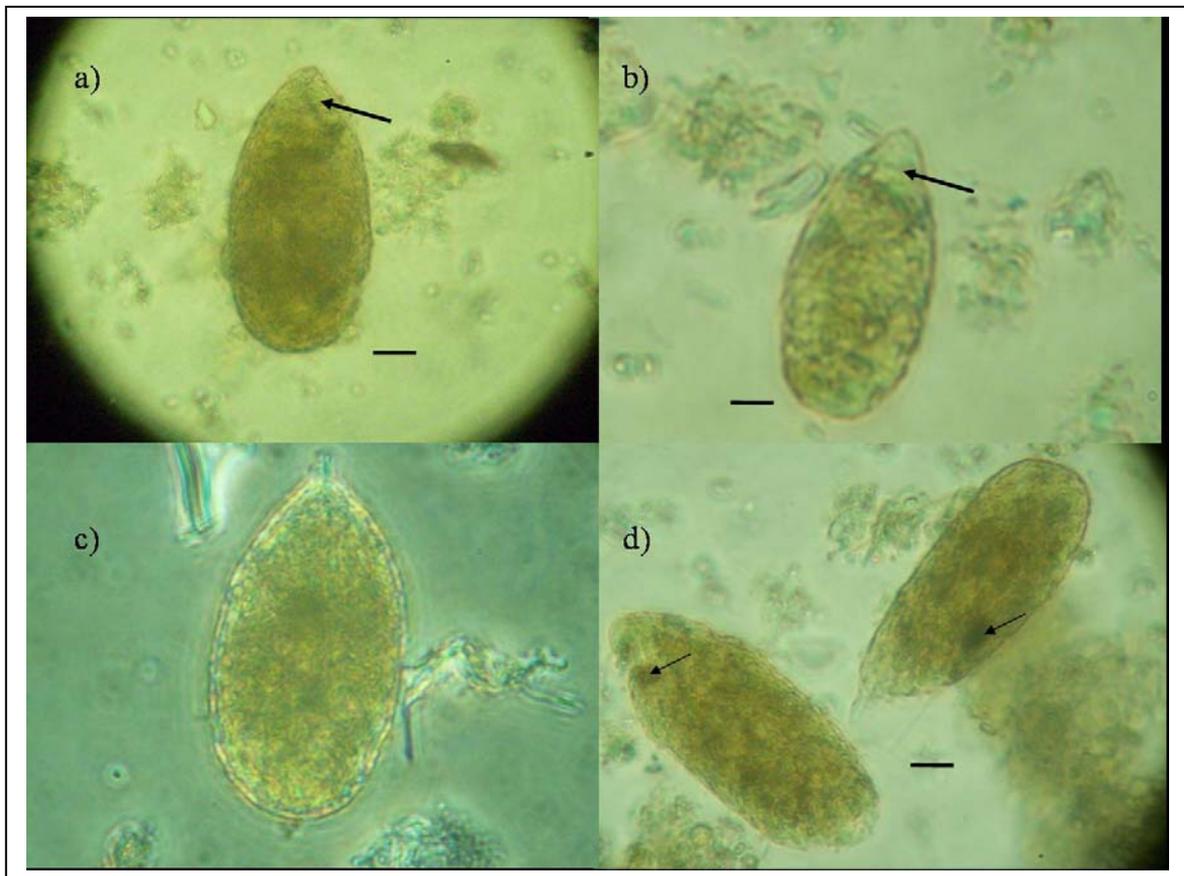


Figura 28. Fotomicrografias de *Ostreopsis* sp1. a, b) Microscopia de campo claro no aumento de 200x, células em visão apical assinalada a região ventral afunilada. c) Célula em microscopia de contraste de fase no aumento de 400x. d) Duas células, em microscopia de campo claro, aumento de 200x, assinalada a presença de corpos avermelhados. Escala = 10 μ m.

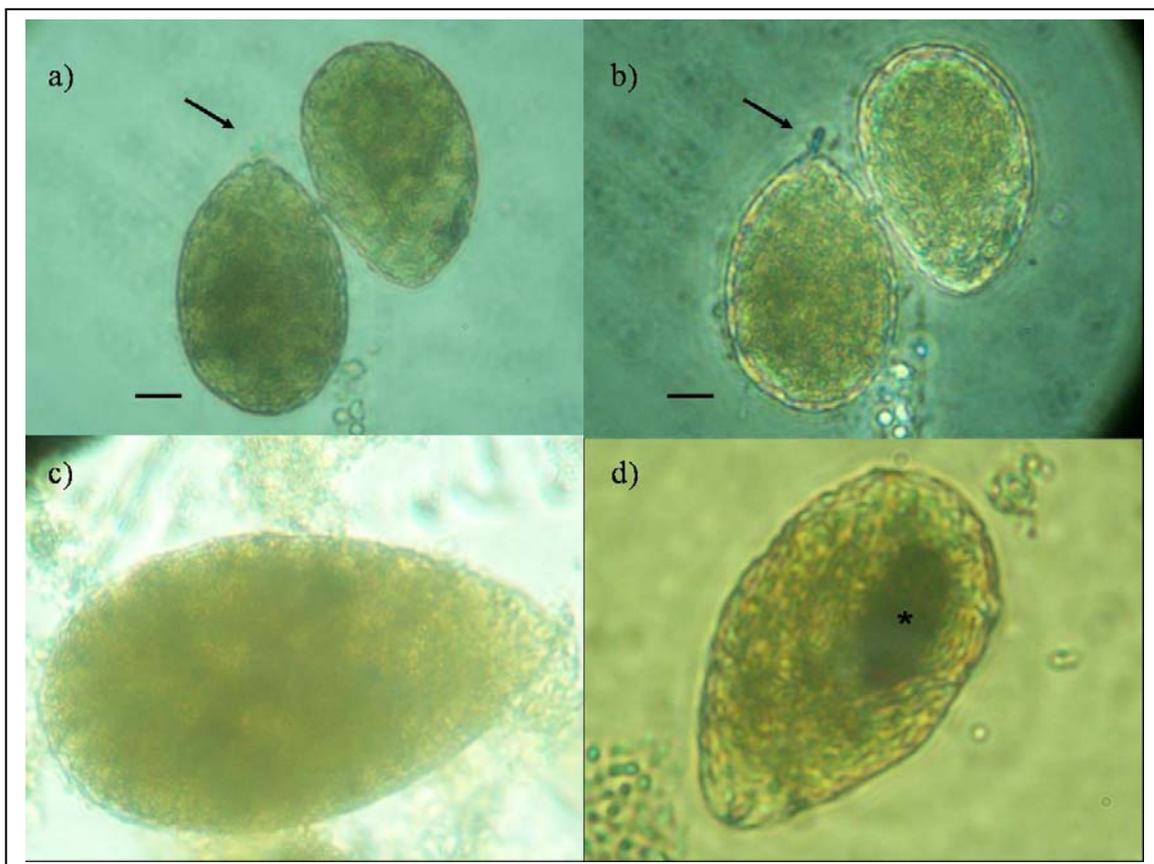


Figura 29. Fotomicrografias de *Ostreopsis* sp2. a) Células em microscopia de campo claro, aumento de 200x; região ventral afunilada e dorsal arredondada. b) As mesmas células em contraste de fase, assinalada estrutura semelhante ao pedúnculo alimentar sendo estendido à partir da região ventral (notar que em campo claro essa estrutura não é tão visível). c) Célula em aumento de 400x, microscopia de campo claro. d) Célula em visão apical, aumento, de 400x, presença de corpo avermelhado (*). Escala = 10µm.

Características gerais: Dinoflagelado fotossintético com muitos cloroplastos marrom dourado e núcleo localizado posteriormente. Marinho, bentônico, epífito normalmente associado a areia e macroalgas, ticoplanctônico, e tecado. As espécies deste gênero são amplamente distribuídas em ambientes costeiros e estuarinos marinhos, em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Algumas espécies desse gênero são tóxicas (STEIDINGER; TANGEN 1997).

Descrição Taxonômica: Na literatura, as espécies pertencentes ao gênero *Ostreopsis* quando observados em visão apical ou antapical são comprimidas anterior-posteriormente, e tanto a epiteca quanto a hipoteca não são visivelmente diferentes em tamanho. A identificação no nível de espécie baseia-se na morfologia da superfície celular utilizando MI e MEV, empregando os seguintes caracteres: forma e tamanho da célula, o padrão das placas tecaís (Tabulação Po, 3' (4'), 7'' (6''), 6c, ≥6s, 5''', 1p, 2''', Vp entre 1'' e 7'' ou entre 1'' e a 6'') e dos poros sobre a teca, como descrito por Fukuyo (1981) e Faust (1996). No entanto, algumas características diagnósticas são fundamentais para a identificação específica, tais como: o cingulo, que em visão ventral possui duas estruturas protuberantes: uma placa ventral (Vp) com um poro ventral (Vo), e uma placa curva e rígida (Rp), além da forma da primeira placa apical (1') sobre a epiteca e, o número e tamanho dos poros tecaís (FUKUYO, 1981, FAUST, 1996; CHANG et al., 2000; PENNA et al., 2005). O poro ventral (Vo) pode estar envolvido na captura de presas em condições de fagotrofia e também na extrusão fibrilar de mucilagens. Alguns autores relataram à presença de uma mucilagem de cor amarronzada cobrindo a

superfície de macroalgas epifitadas por *Ostreopsis ovata* e *Ostreopsis* cf. *siamensis* após eventos de floração em diferentes regiões da Europa (VILA et al., 2001; ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS 2006; BARONE, 2007; MAGIALAJO et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2008). Existem relatos de mixotrofia para essas duas espécies (FAUST; MORTON 1995 apud BARONE, 2007).

Na literatura duas diferentes morfoespécies de *Ostreopsis* tem sido distinguida, *O.* cf. *siamensis* e *O. ovata*, ambas apresentando uma placa com o seguinte padrão: Po, 3', 7'', 5''', 2''', 1p (PENNA et al., 2005). As células de *Ostreopsis ovata* apresentam forma ovóide (em forma de lágrima) e são afiladas na região apical. As células medem dorso-ventralmente de 47 a 55 µm de diâmetro e de 27 a 35 µm de transdiâmetro, sendo a menor espécie do gênero. A teca é lisa, ornamentada com placas contendo poros pequenos (0,07 µm de diâmetro) distribuídos de maneira uniforme (FUKUYO, 1981). Faust (1996) e Penna et al. (2005) relataram a presença de dois poros de tamanhos diferentes sobre a teca. A epiteca possui um poro apical (Po) curto e assimétrico associado com a estreita placa apical 2'. A placa 1' é longa e hexagonal ocupando o centro da célula. Na hipoteca, a placa intercalar posterior (1p) é longa e estreita. *O. ovata* difere das demais espécies do gênero, principalmente de *O. siamensis* e *O. lenticularis*, pela sua forma ovóide em forma de lágrima, pelo seu pequeno tamanho e pela presença de um poro apical (Po) curto e reto (FUKUYO, 1981).

As células de *O. siamensis* também são ovóides (em forma de lágrima) e pontudas em direção ao sulco em visão apical. Normalmente as células são grandes, com um diâmetro dorsoventral variando de 108 a 123 µm de comprimento e de 76 a 86 µm de transdiâmetro (largura). Todas as placas tecais estão cobertas com muitos poros redondos de dois tamanhos diferentes (pequenos: 0,1 µm de diâmetro e grandes: 0,5 µm de diâmetro) uniformemente dispersos. A epiteca possui um poro apical curvo, estreito e longo (Po) associado à placa 2''. A placa 1' é grande, estreita e pentagonal. A hipoteca contém oito placas (FAUST, 1996; CHANG et al., 2000; PENNA et al., 2005).

Aligizaki e Nikolaidis (2006) comentaram que a identificação de *Ostreopsis* tornou-se difícil depois das descrições feitas por Faust et al. (1996) e Chang et al. (2000), pois são contraditórias as de Fukuyo (1981), sobretudo quanto ao número e tamanho de poros tecais de *O. siamensis* e *O. lenticularis*. Fukuyo (1981) cita um único tamanho de poro na teca para *O. siamensis* e dois poros de tamanhos diferentes para *O. lenticularis*, mas, o oposto foi ressaltado por Faust (1996), Chang et al. (2000) e Penna et al., 2005. Estes autores também observaram poros de grandes tamanhos na superfície da teca de *O.* cf. *siamensis* e *O. ovata* isoladas no Mar Mediterrâneo.

De acordo com Penna et al. (2005) a principal diferença encontrada entre essas duas morfoespécies estava na relação entre o diâmetro transversal (largura) e o diâmetro anterior-posterior (comprimento). *O.* cf. *siamensis* apresentou a largura maior que o comprimento resultando em uma célula com forma plana e *O. ovata* a relação transdiâmetro e comprimento foram semelhantes resultando em uma célula com formato ovóide. No presente estudo foi observado e apresentado duas morfoespécies com características morfométricas diferenciadas (ver Figuras 28 e 29).

Na lista taxonômica de algas tóxicas da IOC quatro espécies desse gênero são consideradas potencialmente tóxicas: *O. lenticularis* é produtor de duas neurotoxinas identificadas como Ostreotoxina 1 e 3 um provável análogo de PTX; *O. mascarenensis* produz um composto poliéter, um análogo de PTX, tóxico a camundongos. A substância isolada foi identificada como Mascarenotoxina A e B e pode ser responsável pelo envenenamento por palitoxina que causa no homem câimbras, náuseas, diarreia e etc após o consumo de caranguejos e peixes; *O. ovata* é produtor de um composto butanólico, possivelmente um análogo de palitoxina (PTX); e *O. siamensis* produz Ostreocina D, um análogo da palitoxina que pode causar clupeotoxismo, um tipo de envenenamento causado

após o consumo de algumas espécies de peixes, como sardinhas, anchovas e arenques (NAKAGIMA et al., 1984; TINDALL et al., 1990; QUOD, 1994; USAMI et al., 1995; ONUMA et al., 1999; LENOIR et al., 2004).

5.2 Distribuição Espacial e Temporal dos Dinoflagelados

5.2.1 *Coolia* spp.

A maior parte de dinoflagelados identificados no presente trabalho apresentaram ocorrência pontual e esporádica, ou seja, não apresentaram um padrão de distribuição ao longo do ano. Tais espécies não puderam ser avaliadas segundo sua variação espacial e temporal, como no caso do gênero *Coolia* (Tabela 01) que somente foi detectado nos meses de janeiro (apenas na Guaíba, com média de 45 células.grama⁻¹ de macroalga), fevereiro (apenas na Marambaía, com média de 5 células.grama⁻¹ de macroalga), maio (apenas na Guaíba, com média de 88 células.grama⁻¹ de macroalga) e agosto (apenas na Guaíba, com média de 3 células.grama⁻¹ de macroalga).

Devido à sua ocorrência pontual, apenas no mês de setembro, as células aberrantes de *Ostreopsis* também não foram incluídas na análise de variância.

Tabela 01. Presença de dinoflagelados epibentônicos do gênero *Coolia*, nas ilhas Guaíba e Marambaía (Mangaratiba, Baía de Sepetiba, RJ) durante o período analisado. Unidade: densidade celular. grama⁻¹ de peso seco de macroalgas. Valores médios.

	<i>Coolia</i>	
	Guaíba	Marambaía
Janeiro	45	0
Fevereiro	0	5
Março	0	0
Abril	0	0
Maio	88	0
Junho	0	0
Julho	0	0
Agosto	3	0
Setembro	0	0
Outubro	0	0
Novembro	0	0
Dezembro	0	0

Para a ilha Guaíba, em janeiro, foi encontrado o valor máximo de 220 células de *Coolia* em 1 grama de *Codium decorticans*. Em fevereiro, apenas na ilha da Marambaía o valor máximo encontrado para a densidade celular de *Coolia* foi de 18 células em *Padina gymnospora*. O mês mais importante para a ocorrência deste gênero foi maio onde *Coolia* foi encontrada em todos os substratos analisados: 141 células em *P. gymnospora*, 48 em *Caulerpa racemosa*, 204 em *Codium decorticans* associado à *Caulerpa sertularioides*, 18 células em *Caulerpa sertularioides* e 31 células em *Jania capillacea* associada à *Chondracanthus acicularis*. Neste estudo *Coolia* sp. apresentaram um padrão de distribuição pontual e esporádico, sendo detectada em concentrações muito baixas (tabela 1).

O gênero *Coolia*, especialmente a espécie *Coolia monotis*, é comum nas águas quentes do Caribe, Mar Mediterrâneo e Oceano Pacífico, e a sua presença tem sido bem documentada em várias partes do mundo. As mais altas abundâncias geralmente são associadas aos períodos quentes (RHODES; THOMAS 1997; VILA et al., 2001; PENNA et al., 2005; ALIGIZAKI; NIKOLAIDS 2006; ARMI et al., 2009). O gênero possui táxons produtores de toxinas que podem causar a morte de peixes, contaminar os moluscos bivalvos e o homem (ARMÍ et al., 2009).

No Mar Mediterrâneo a espécie *Coolia monotis* geralmente tem sido detectada durante todo o ano em baixas concentrações e associada a outros dinoflagelados bentônicos e epifíticos, como espécies do gênero *Ostreopsis* e *Prorocentrum*. Na Grécia, Aligizaki e Nikolaidis (2006) detectaram *C. monotis* no Norte do Mar Egeu no inverno e na primavera, porém com pico de abundância ocorrendo no mês de agosto (1.6×10^4 cel.g⁻¹ peso úmido de macroalgas). No ano de 2006, no Norte do Lago de Tunis, na Tunísia ocorreu uma floração de *C. monotis* que atingiu concentrações de 5×10^5 células.litro⁻¹ no final da primavera com o máximo de abundância no mês de maio e início do verão. A floração ocorreu durante as variações mais altas de temperaturas (> 22°C) e salinidades (> 38.6) (ARMI et al., 2009). A proliferação de dinoflagelados epibentônicos nocivos nas águas costeiras do Mar Mediterrâneo foi correlacionada por Mangialajo et al. (2008) a temperaturas quentes associada às condições de calmaria do mar e altas pressões atmosféricas. Os autores relatam que tais condições ambientais poderiam induzir indiretamente a proliferação do fitoplâncton. Rhodes e Thomas (1997) associaram as florações de *C. monotis* ocorridas na região costeira da Nova Zelândia também às condições de calmaria, águas quentes (20 a 22.8°C) e alta incidência de irradiação.

5.2.2 *Ostreopsis* spp.

Trabalhou-se com a variável densidade celular de dinoflagelado por grama de peso seco de macroalga (nº de células.grama⁻¹). A verificação dos pressupostos de normalidade e igualdade das variâncias foi efetuada através de testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Para atingir o requisito de normalidade, ou distribuição Gaussiana, os dados foram submetidos à transformação por logaritmo normal ($y=\ln(x)$). A análise de variância bifatorial testou a diferenças espaciais (Guaíba x Marambaía) e temporais (estações do ano) entre as concentrações dos dinoflagelados de interesse, ao longo de um ano de amostragem.

A variação espacial explicou apenas 2,98% da variância total dos dados, e não se mostrou significativa ($p = 0,0743$). Da mesma forma, a interação entre local e época do ano também não foi significativa ($p = 0,1234$), explicando apenas 5,42% da variância total dos dados. A variação temporal foi considerada significativa ($p < 0,01$), explicando 12,35% da variância total na distribuição de *Ostreopsis*, restringindo-se, porém ao período de outono. Nesta estação, foram observadas as maiores concentrações de *Ostreopsis* (Tabela 02) na Marambaía (Figura 30).

Tabela 02. Presença de dinoflagelados epibentônicos do gênero *Ostreopsis*, nas Ilhas Guaíba e Marambaía (Mangaratiba, Baía de Sepetiba, RJ) durante o período analisado. Unidade: densidade celular. grama⁻¹ de peso seco de macroalgas. Valores Médios.

	<i>Ostreopsis</i>		Célula aberrante	
	Guaíba	Marambaía	Guaíba	Marambaía
Janeiro	2347	1849	0	0
Fevereiro	417	760	0	0
Março	1840	827	0	0
Abril	1531	1078	0	0
Mai	136	0	0	0
Junho	2111	6665	0	0
Julho	679	3237	0	0
Agosto	3127	2291	0	0
Setembro	2097	1096	1593	0
Outubro	1043	939	0	0
Novembro	66	525	0	0
Dezembro	456	412	0	0

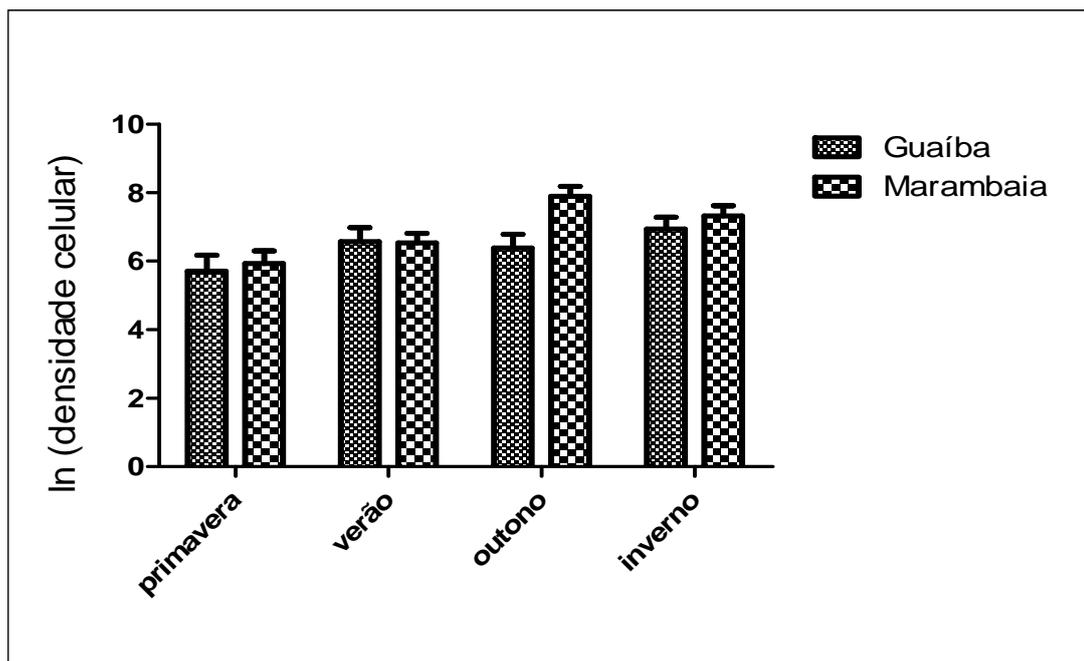


Figura 30. Distribuição espacial e sazonal de *Ostreopsis* (densidade celular.grama⁻¹ de peso seco de macroalga), nas ilhas Guaíba e Marambaia durante o período analisado. Dados normalizados por logaritimização natural ($y=\ln$ densidade celular).

Ostreopsis ovata tem sido a espécie dominante na comunidade de dinoflagelados epífitos da costa leste do Rio de Janeiro (Tabela 03). Além de estar associada a eventos de florações nesta mesma região (NASCIMETO, 2006; CORREA et al., 2007). A composição das espécies de dinoflagelados potencialmente tóxicos nas comunidades bentônicas nesta região vem sendo composta por *Ostreopsis ovata*, *P. lima*, *P. emarginatum*, *P. rhathymum*, *Coolia* cf. *monotis*, *Amphidinium* cf. *operculatum* (NASCIMENTO et al., 2008).

No Mar Egeu, na Grécia, nos meses de agosto e setembro de 2003 e 2004, as *Ostreopsis* dominaram a comunidade de epífitos acompanhada de *Coolia monotis*, *Prorocentrum lima*, *P. rhathymum*, *P. emarginatum* e *Amphidinium* spp.. As células de *Ostreopsis* foram detectadas em 94% das amostras (dos 50 locais amostrados esteve presente em 47) e *Coolia* em 100% das amostras (nos 50 locais amostrados) (ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS 2006).

No Mar Mediterrâneo, nos estudos conduzidos por Vila et al (2001) e Penna et al (2005), as *Ostreopsis* apresentaram um padrão de distribuição diferente, estiveram presentes ao longo de todo ano e apresentaram níveis máximos de abundância entre os meses de março a setembro. Na Nova Zelândia, *Ostreopsis siamensis* foi a espécie dominante, representando de 64 a 85% do total dos dinoflagelados epífitos, ocorrendo no verão (CHANG et al., 2000).

Barone (2007) observou a presença de várias espécies potencialmente tóxicas de dinoflagelados epibentônicos na costa Italiana (Sicília) no ano de 2006 co-ocorrendo com uma floração de *O. ovata*. *Amphidinium carterae*, *A. operculatum*, *C. monotis*, *O. ovata* e *P. lima* foram isolados de macroalgas verdes (*Ulva rigida*, *Chaetomorpha linum*) e vermelhas (*Corallina elongata*, *Pterocladia capillacea*) (BARONE; PRISINZANO, 2006 apud BARONE, 2007). Chang et al. (2000) também encontraram uma associação similar na composição das espécies de dinoflagelados, consistindo de *O. lenticularis*, *O. ovata* e *O. siamensis*, *Coolia monotis*, *P. lima* e *P. compressum*.

Nas águas costeiras das ilhas Unguja em Zanzibar (Tasmania) foi detectada a presença de várias espécies de dinoflagelados tóxicos envolvidos em surtos de intoxicação humana por Ciguatera. Dentre os vários organismos listados, incluiu-se *O. ovata*, *O.*

Heptagona, *Ostreopsis* spp., várias espécies do gênero *Prorocentrum* (*P. concavum*, *P. lima*, *P. mexicanum*, *P. spp.*), *Coolia* cf. *monotis*, *Amphidinium* spp. e *Gambierdiscus toxicus* (KYEWALYANGIA; LUGOMEZA [200-?]).

Tabela 03. Valores máximos de densidade celular de *Ostreopsis* spp. encontrados no presente trabalho e na literatura consultada.

Espécies de Dinoflagelados	Densidade celular.g ⁻¹ de macroalga ^{a,b}	Local e Época do Ano	Referência
<i>Ostreopsis</i> spp.	7,2x10 ³ (b) *	Ilha Guaíba (verão 2008)	Presente trabalho
<i>Ostreopsis</i> spp.	16x10 ³ (b) **	Ilha Marambaia (outono 2008)	Presente trabalho
<i>O. ovata</i>	5,9 x 10 ⁵ (a)	Costa Catalan (julho 1997)	VILA et al. (2001)
<i>O. ovata</i>	4 x 10 ⁶	Genova (Itália em 2005)	CIMINIELLO et al. (2006)
<i>O. ovata</i> e <i>O. cf. siamensis</i>	4,05 x 10 ⁵ (a)	Mar Egeu (verão e outono)	ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS (2006 ^a)
<i>O. ovata</i>	124 x 10 ³ (b)	Conero Riviera (Mar Adriático)	TOTTI et al. (2007)
<i>O. ovata</i>	1,8 x 10 ⁴ (a)	Hawaii	PARSON; PRECKITT (2007)
<i>Ostreopsis</i> spp.	6 x 10 ³ (a)	Mar Egeu (verão e outono) 2004, 2005 e 2006)	ALIGIZAKI et al. (2008)
<i>O. ovata</i>	2541 x 10 ³ (a)	Genova (Mar de Ligúria)	MANGIALAJO et al. (2008)
<i>O. ovata</i>	1,2 x 10 ⁶ (b);		
<i>O. ovata</i>	5,1 x 10 ⁵ (b);	Búzios	NASCIMENTO et al. (2008)
	1,6 x 10 ⁴ (b)		

(a) peso úmido de macroalga; (b) peso seco de macroalga; * em *Laurencia catarinensis*. ** em *Padina gymnospora*.

Na floração de *O. ovata* ocorrida em Búzios no ano de 2006, *Prorocentrum lima*, co-ocorreu com *O. ovata* epifitando *Laurencia* sp. e *Amphiroa fragilíssima* (rodofíceas); *Sargassum vulgare* (feofíceas) e *Codium intertextium* (clorofíceas). As densidades de *O. ovata* variaram de 1,2 x 10⁶ células.g⁻¹ de peso seco de *Laurencia* sp (1,5 x 10⁵ células.g⁻¹ de peso úmido de *Laurencia* sp.); em *Sargassum vulgare* a densidade média foi de 5,1 x 10⁵ células.g⁻¹ de peso seco da macroalga (7,2 x 10⁴ células.g⁻¹ de peso úmido de *Sargassum vulgare*); e as mais baixas densidades registradas sobre *Codium intertextium* de 1,6 x 10⁴ células.g⁻¹ de peso seco da macroalga (1,7 x 10³ células .g⁻¹ de peso úmido de *Codium intertextium*). *Prorocentrum lima* também foi observado epifitando as amostras de macroalgas em densidades que variaram entre 100 a 1302 células.g⁻¹ de peso úmido de macroalgas (NASCIMENTO et al., 2008).

Em dezembro de 2006, durante outra floração de *O. ovata* em Arraial do Cabo, um filme de cor marrom-amarelado foi observado cobrindo as amostras de macroalgas. As densidades de *O. ovata* foram de 2,1 x 10⁴ células.g⁻¹ de peso úmido de uma mistura de *A. fragilissima* e *Jania capillacea* (rodofíceas). *P. lima* não foi observado nas amostras durante esta floração. Os autores relataram que duas semanas antes da floração, as densidades de *O. ovata* variaram entre 24 células.g⁻¹ de peso úmido de *Jania capillacea* e de 392 células.g⁻¹ de peso úmido de *A. fragilissima*. A temperatura média da água foi de 24,1°C (NASCIMENTO et al., 2008). Em janeiro de 2007, as condições climáticas mudaram (chuvas intensas, fortes ventos, queda brusca de temperatura) causando um decréscimo acentuado na população de

Ostreopsis. As densidades *O. ovata* foram de 1,337 cel.g⁻¹ de peso úmido sobre *A. fragilissima*, e durante este mesmo período as densidades de *P. lima* variaram entre 30 e 230 cel.g⁻¹ de peso úmido de *A. fragilissima*. *P. emarginatum* e *Amphidinium* cf. *operculatum* também foram relacionados a baixas densidades. Estes autores relataram que as densidades encontradas na costa leste do estado do RJ foram uma das mais altas já mencionadas na literatura (NASCIMETO et al., *op. cit.*).

Na lagoa de Trou Aux Biches, Ilhas Mauritius, onze espécies de dinoflagelados potencialmente tóxicos foram descritos por Hurbungs et al. (2001) durante um ciclo anual (1998 a 1999). *G. toxicus*, *P. lima*, *P. concavum*, *P. emarginatum*, *P. mexicanum*, *Prorocentrum* sp., *O. lenticularis*, *O. ovata*, *Ostreopsis* sp., *C. monotis* e *Amphidinium* sp. ocorreram epifitando rodofíceas (*Jania* sp., *Gracilaria* sp. e *Hypnea* sp.). *Amphidinium* sp. foi a espécie dominante (32,5%) no ano de 1998, e *Prorocentrum* foi a espécie mais abundante (54,7%) no ano de 1999. *Ostreopsis* também ocorreu em maior número.

No Mar de Liguria litoral de Genova, Itália, Mangialajo et al. (2008), quantificaram uma floração de *O. Ovata* em julho de 2006. Durante o período de proliferação a densidade máxima de dinoflagelados epífitos encontrada foi de 2541 x 10³ cel.g⁻¹ de peso úmido de macroalgas. Durante a floração a temperatura não mostrou grandes variações (23 a 30,2°C). As maiores abundâncias foram relacionadas quando a temperatura excedeu 26°C.

O. siamensis, *O. ovata* e *O. lenticularis* foram as espécies de dinoflagelados mais comuns e amplamente distribuídas no leste e oeste das Ilhas Norte, na Nova Zelândia, durante o verão. *P. lima* e *Coolia monotis* foram menos abundantes e esporádicos. Em março de 1996, as máximas concentrações de *Ostreopsis* (as três espécies) foram registradas para Rorawa (556-1095 célula.g⁻¹ peso úmido de macroalgas); Tokerau (314-502 células.g⁻¹ de peso úmido de macroalgas), ambas sempre associadas a *Carpophyllum maschalocarpum*. Nos demais locais apresentou baixas densidades (menor 15 células.g⁻¹ peso úmido de macroalgas). *O. siamensis* foi a espécie dominante representando 85% da concentração celular total. *O. ovata* e *O. lenticularis* estiveram sempre presentes nos locais amostrados, mas sempre em baixas densidades (8 a 38% e 0,5 a 4%, respectivamente). *P. lima* e *Coolia monotis* foram as espécies menos abundantes nos locais investigados no verão. No mês de setembro de 1996, *O. siamensis* e *O. lenticularis* foram registradas em um número muito pequeno em Rangiputa e Rorawa. *O. ovata*, *P. lima* e *Coolia monotis* estiveram ausente em todos os outros locais (CHANG et al., 2000).

5.2.3 *Prorocentrum* spp.

Das espécies de *Prorocentrum* identificadas apenas *P. micans* e *Prorocentrum* cf. spp. apresentaram ocorrência constante ao longo do ano. As demais espécies ocorreram principalmente no verão. Optou-se por agrupar todas as espécies do gênero para a realização da análise de variância bi-fatorial para verificar a existência de padrões de variação sazonal e espacial (Tabela 04). Buscou-se verificar se houve diferença na distribuição de *Prorocentrum* entre as ilhas Guaíba e Marambaía. Os fatores local e estação do ano analisados pela análise de variância bi-fatorial apresentaram-se significativos.

O fator época do ano apresentou o maior percentual para a explicação da variabilidade da variância total dos dados (18,07%) ao nível de $p = 0,0012$, sendo considerado significativo. O fator local apresentou-se significativo ao explicar 9,11% da variância total dos dados ($p = 0,0037$). A interação entre local e época do ano não foi considerada significativa ($p = 0,00889$), explicando apenas 6,77% da variância total dos dados. A ilha Guaíba apresentou constantemente maiores densidades celulares de *Prorocentrum* que a ilha da Marambaía (Tabela 04). Em relação ao tempo o verão foi a estação do ano onde para os dois locais analisados, *Prorocentrum* foi mais abundante (Figura 31).

As espécies bentônicas e epífitas de *Prorocentrum* são produtoras de AO, principalmente *P. lima* e *P. concavum* que frequentemente constituem uma parte significativa dessas comunidades (TAPIA-HEREDIA et al., 2002; FAUST, 2004; FODEN, 2005; MOHAMMAD-NOOR et al., 2009). *P. cf. lima* apresentou uma densidade celular máxima de 3929 células.g⁻¹ de peso seco da macroalga *Canistocarpus cervicornis*, uma rodofícea (que esteve presente apenas em janeiro na ilha Guaíba), mínimo de 37 células.g⁻¹ de peso seco na macroalga *Codium decorticatum*, uma clorofícea, e valor médio de 841 células.g⁻¹ de peso seco de macroalga (Tabela 04) no verão na ilha Guaíba. Também esteve presente em baixas densidades celulares em novembro (73 células.g⁻¹ em *Caulerpa racemosa* associada à *Sargassum vulgare*), dezembro (203 células.g⁻¹ em *Codium taylorii*) e maio (33 células.g⁻¹ em *Padina gymnospora*) sempre na ilha Guaíba.

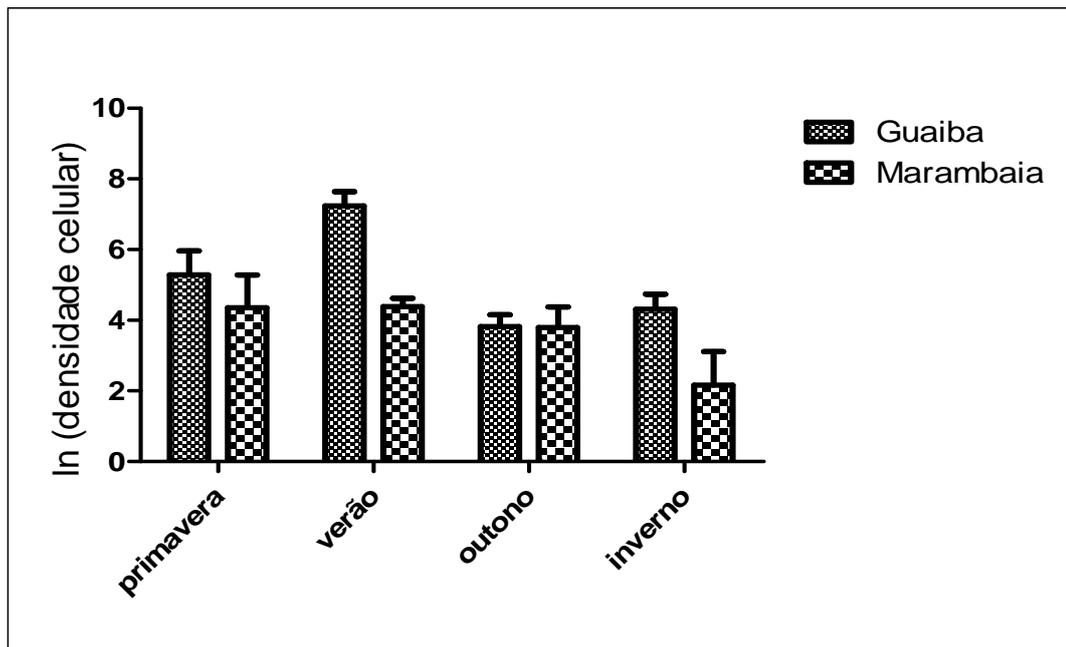


Figura 31. Distribuição espacial e sazonal de *Prorocentrum* (densidade celular.g⁻¹ de peso seco de macroalga), nas ilhas Guaíba e Marambaia durante o período analisado. Dados normalizados por logaritimização natural ($y = \ln$ densidade celular).

Outra espécie potencialmente tóxica identificada foi *P. cf. concavum* que apresentou maiores densidades celulares, 3327 células.g⁻¹ de *Padina gymnospora* correspondendo a 43% da abundância relativa nesse substrato; densidade mínima de 37 células.g⁻¹ em *C. decorticatum*; valor médio de densidade calculado em 749 células.g⁻¹ de peso seco de macroalga (Tabela 04). *P. cf. concavum* esteve presente apenas na coleta de janeiro na ilha Guaíba.

Prorocentrum mexicanum encontra-se implicado na produção de toxinas de ação rápida (FAT, segundo Tindall (1984)). O morfotipo identificado no presente estudo apresentou o mesmo padrão de distribuição dos demais prorocentróides potencialmente toxígenos: ocorreu em maior densidade celular apenas em janeiro na ilha Guaíba. A maior densidade celular relatada foi de 2065 células associada às rodofíceas *Laurencia catarinensis* epifitada por *Hypnea spinella*. Sua menor abundância foi encontrada associada à *Sargassum stenophyllum* com 75 células.g⁻¹ de macroalga seca. O valor médio de sua densidade no mês de janeiro foi 387 células.g⁻¹ (Tabela 04). *P. cf. mexicanum* ocorreu em baixas densidades em maio (média de 12 células em *Padina gymnospora* e *Codium decorticatum* associado à *Caulerpa sertularioides*) e em novembro (31 células em *Padina gymnospora* associada à

Caulerpa spp. e *Codium taylorii*), sempre na ilha Guaíba. No mês de novembro ocorreu o único relato de *P. cf. mexicanum* para a ilha da Marambaía com 411 células sobre o substrato *P. gymnospora*.

As espécies de *Prorocentrum* são amplamente distribuídas, com ocorrência no Mar Mediterrâneo, Grécia, Itália, Nova Zelândia, Nova Escócia, na lagoa de Fleet, UK, na costa de Cuba, Canadá, no leste do Rio de Janeiro (FOLDEN et al., 2005; ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS 2006b; DELGADO et al., 2006; MANGIALAJO et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2008; ALIGIZAKI et al., 2009).

P. lima foi a espécie mais abundante na costa da Grécia, além de ocorrer durante todo o ano em abundâncias acima de $1,33 \times 10^5$ células.g⁻¹ de peso úmido de macroalgas, no substrato *Cymodocea nodosa*, principalmente no mês de novembro. A comunidade bentônica foi composta por *O. ovata*, *O. cf. siamensis*, *C. monotis* e *Amphidinium* spp., as outras espécies de *Prorocentrum* foram mais esporádicas e restritas ao período quente (ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS 2006).

Tabela 04. Presença de dinoflagelados epibentônicos do gênero *Prorocentrum*, nas Ilhas Guaíba e Marambaía (Mangaratiba, Baía de Sepetiba, RJ) durante o período analisado. Unidade: densidade celular. grama⁻¹ de peso seco de macroalgas.

	<i>Prorocentrum</i> spp.		<i>P. cf. arenarium</i>		<i>P. cf. balticum</i>		<i>P. cf. concavum</i>		<i>P. cf. emarginatum</i>		<i>P. gracile</i>		<i>P. cf. lima</i>		<i>P. cf. mexicanum</i>		<i>P. micans</i>	
	G	M	G	M	G	M	G	M	G	M	G	M	G	M	G	M	G	M
Janeiro	1067	22	12	0	12	0	749	0	208	0	36	2	841	0	387	0	1191	26
Fevereiro	692	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1254	12
Março	249	124	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	587	47
Abril	57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	2
Maiο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	7	0	12	0	0	0
Junho	0	14	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Julho	15	73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41	71
Agosto	37	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	426	28
Setembro	13	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	68	3
Outubro	9	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26
Novembro	936	729	0	0	0	0	0	0	8	0	18	0	37	0	16	137	246	30
Dezembro	289	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51	0	0	0	0	0

G – Ilha Guaíba;

M – Ilha da Marambaía.

No leste do Rio de Janeiro, Nascimento et al. (2008) mencionaram a ocorrência de *P. lima*, *P. emarginatum*, *P. rhathymum*. Também estiveram presentes na comunidade epifítica *Coolia* cf. *monotis*, *Amphidinium* cf. *operculatum* e *O. ovata*.

Aligizaki e Nikolaidis (2006) descreveram a ocorrência de 5 diferentes espécies de *Prorocentrum* nas águas do Mar Egeu no período de agosto de 2003 a dezembro de 2005. As espécies *P. lima*, *P. emarginatum*, *P. rhathymum*, *P. borbonicum*, *Prorocentrum* sp1. foram identificadas. *P. borbonicum* representou o primeiro registro para as águas do Mar Mediterrâneo; *Prorocentrum* sp1. apresentou características morfológicas diferentes das outras espécies de *Prorocentrum* bentônicas; enquanto *P. lima*, *P. emarginatum* and *P. rhathymum* já haviam sido relatadas para as águas costeiras do Mar Mediterrâneo.

Tabela 05. Valores máximos de densidade celular de *Prorocentrum lima* encontrados no presente trabalho e na literatura consultada.

Espécies de Dinoflagelados	Densidade celular.g ⁻¹ de macroalga ^{a,b}	Local e Época do Ano	Referência
<i>Prorocentrum lima</i>	3,9 x 10 ^{3(b)*}	Ilha Guaíba (verão 2008)	Presente trabalho
<i>P. lima</i>	10 ³ à >10 ⁴	Cuba	DELGADO (2006)
<i>P. lima</i>	1,33 x 10 ^{5(a)}	Mar Egeu (2003 a 2005)	ALIGIZAKI; NIKOLAIDIS (2006b)
Complexo do “ <i>P. lima</i> ”	1,33 x 10 ^{5(a)}	Mar Egeu	ALIGIZAKI et al. (2009)

*sobre *Canistrocarpus cervicornis*.

5.3 Relação entre Dinoflagelados Potencialmente Nocivos e Macroalgas

Como houve grande variação na ocorrência das espécies de macroalgas (ao longo dos locais estudados e do tempo) as algas identificadas foram agrupadas em feofíceas, rodofíceas e clorofíceas. Este agrupamento foi realizado para verificar-se a ocorrência de um padrão de distribuição dos dinoflagelados nestes grupos por análise de variância simples, testando-se a variável densidade celular média dos dinoflagelados por grupo de macroalga, que resultou não significativa.

Em seguida foram selecionadas as espécies de macroalgas mais frequentes e que exibiram uma maior riqueza e densidade celular de dinoflagelados associados a elas: *Padina gymnospora*, *Sargassum* spp., *Codium* spp., *Caulerpa* spp. e *Laurência* spp. Dentre os dinoflagelados apenas *Ostreopsis* apresentou réplicas suficientes (desconsiderando sua variação temporal observada na ANOVA bi-fatorial) que possibilitasse a verificação da existência de um padrão de ocorrência nas macroalgas selecionadas. Para que se obtivesse um número significativo de amostras de macroalgas para a elaboração deste teste também foi necessário ignorar a sua variação espacial e sazonal, visto que as macroalgas selecionadas (as mais abundantes e frequentes) não estiveram presentes simultaneamente nos dois locais durante todos os meses. Realizou-se uma análise de variância simples resultando não significativa para a relação entre as macroalgas selecionadas e *Ostreopsis* (Figura 32).

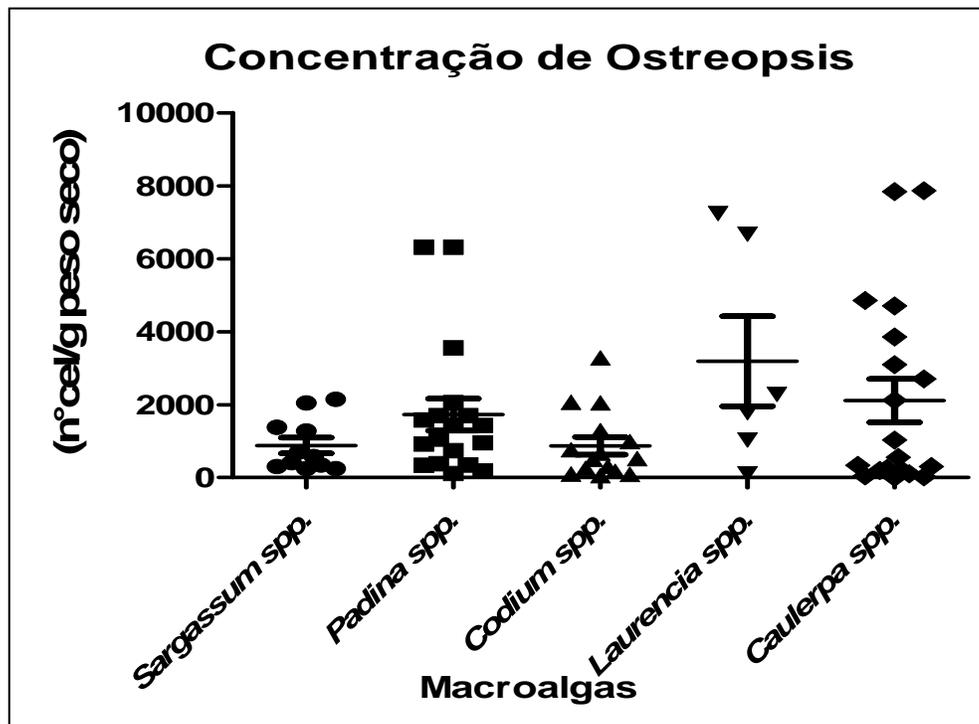


Figura 32. Presença de *Ostreopsis* spp. nas espécies de macroalgas de maior frequência nas ilhas Guaíba e Marambaía, baía de Sepetiba (RJ) durante o período de janeiro a dezembro de 2008. Unidade: densidade celular.grama⁻¹ de peso seco de macroalgas.

5.3.1 Aspectos estruturais

O grupo das macroalgas pardas, ou feofíceas, foi encontrado como principal substrato disponível para os dinoflagelados identificados nesta pesquisa (Figura 33). Tal achado encontra-se de acordo com o relatado por Amado-Filho et al. (2003) e Széchy et al. (2005) que citam as feofíceas como as macroalgas mais abundantes e frequentes para a baía de Sepetiba. Dentre este grupo a espécie *Padina gymnospora* (Figura 34) foi a mais frequente, ocorrendo em todos os meses amostrados. *Sargassum* também é um gênero frequente (tendo sido identificadas quatro espécies *S. cymosum*, *S. filipendules*, *S. stenophyllum*, *S. vulgare*), sendo encontrado principalmente no verão e outono (Figura 35). De ocorrência esporádica foram identificadas *Canistrocarpus cervicornis* (ilha Guaíba em janeiro), *Dictiopteris delicatula* (ilha da Marambaía em abril e junho). Foi observada uma riqueza de 8 espécies, ao longo de todo o ano, para este grupo de macroalgas.

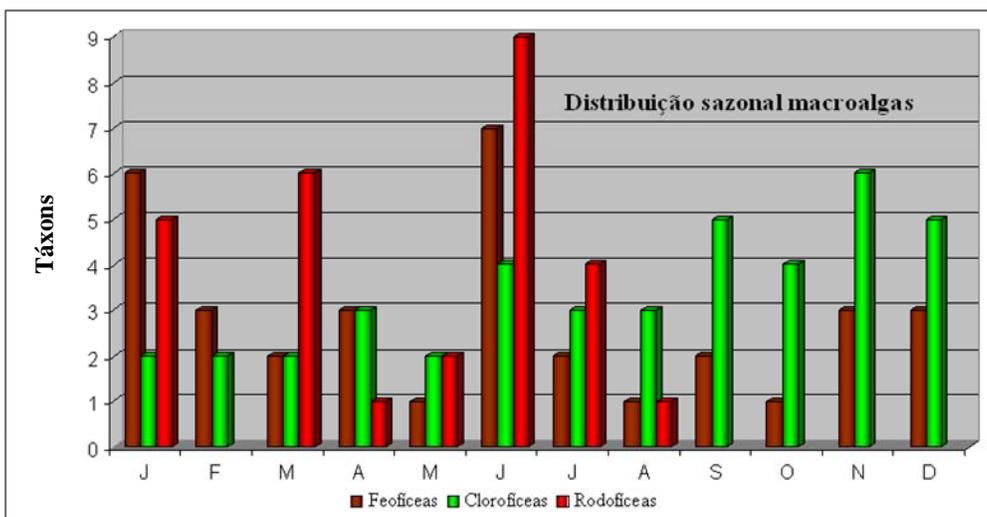


Figura 33. Macroalgas disponíveis como substrato para dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos, agrupadas por pigmento, para as ilhas Guaíba e Marambaía durante o período analisado.



Figura 34. Exemplos de *Padina gymnospora*, a feoíceia mais abundante e frequente nas ilhas Guaíba e Marambaía (baía de Sepetiba) durante o período analisado.



Figura 35. Exemplares de *Sargassum*, a feofícea abundante e frequente nas ilhas Guaíba e Marambaía (baía de Sepetiba) durante o período analisado.

Para as rodofíceas, ou algas vermelhas, a ocorrência foi durante o período de outono/inverno e no mês de janeiro (Figura 33). Este grupo apresentou a maior riqueza de espécies (18, incluindo as epífitas) e menor biomassa. Ocorriam preferencialmente como epífitas sobre as feofíceas (principalmente associadas à *Sargassum*) e clorofíceas (principalmente associadas à *Codium* como na Figura 36). *Laurencia* foi o gênero que apresentou maior ocorrência dentre as rodofíceas, durante cinco meses (final do verão e início do outono e durante todo o inverno) e apenas na ilha Guaíba. Foram identificadas duas espécies (*L. catarinensis* e *L. translucida*) que não ocorreram epifiticamente, mas que constituíram elas mesmas o escopo da amostra, sendo inclusive epifitadas por outras rodofíceas (*Gracilaria cervicornis*, *Hypnea spinella*, *H. musciformis* e *Crouania attenuata*). De ocorrência pontual relata-se *Aglaothamnion uruguayensi* (ilha Guaíba em janeiro, epífita), *Jania capillacea* (maio na ilha Guaíba, em junho na ilha da Marambaía e Guaíba), *Gellidiopsis gracilis* (ilha Guaíba e Marambaía em junho), *Gelidium pusillum* (ilha Guaíba e Marambaía em Junho), *Spyridia aculeata* (ilha Guaíba em julho, epífita), *Centroceras clavulatum* (ilha Guaíba em julho). Dessa forma as rodofíceas se apresentaram como um substrato menos constante para os dinoflagelados epifíticos por apresentarem ocorrência esporádica ao longo do ano e por apresentarem pequena biomassa.



Figura 36. Clorofíceia *Codium decorticatum* epifitado por rodofíceia *Amphiroa fascis* (assinalada com as setas brancas).

As clorofíceas, ou algas verdes, ocorreram durante todo o ano na área estudada (Figura 33), apresentando maior número de táxons no período primavera/verão. Os gêneros *Codium* e *Caulerpa* foram os mais frequentes, o primeiro com duas espécies (*C. decorticatum* e *C. taylorii*) e o segundo com três espécies (*C. racemosa*, *C. scalpelliformis* e *C. sertularioides*). Também houve a identificação de *Ulva lactuca*, apenas no verão e na ilha da Marambaía. O grupo apresentou uma riqueza de seis espécies durante o período analisado.

Na literatura as clorofíceas são relatadas como algas folhosas que possuem menor complexidade estrutural, logo menor área disponível para a ocorrência dos dinoflagelados epifíticos. No entanto, *Codium* apresenta um revestimento de mucilagem em torno de todo seu talo onde as microalgas podem se aderir conferindo assim maior estabilidade à comunidade de microalgas epifíticas (Figura 37).

Caulerpa é um gênero de macroalga que apresenta talo muito ramificado oferecendo como vantagem aos dinoflagelados epifíticos uma maior área para sua fixação (Figura 38). Vila et al. (2001) sugeriram que os dinoflagelados bentônicos preferem as macroalgas que apresentam uma maior relação tridimensional, alta área de superfície e flexibilidade.



Figura 37. A clorofícea *Codium decorticatum*, coletada na ilha Guaíba em janeiro de 2008, ainda na embalagem com a água do mar e microalgas epifíticas. No detalhe o revestimento de mucilagem produzido pela macroalga.



Figura 38. A clorofícea *Caulerpa scalpelliformis*, coletada na ilha da Marambaía em abril de 2008. Notar a ramificação do talo da macroalga, aumentando a relação superfície volume da macroalga.

Teixeira et al. (1991) relataram que várias espécies de algas, principalmente feofíceas da ordem Dictyotales, e rodofíceas, como algas coralinas e o gênero *Laurencia*, apresentam produção de substâncias alelopáticas com ação antibacteriana e antifúngica. É suposto por estes autores que tais substâncias visem reduzir a colonização das frondes das macroalgas por bactérias e fungos epífitos. Porém ao reduzir o acesso de bactérias e fungos à macroalga como um substrato de fixação, a ação antifouling acaba atuando como um fator de seleção para dinoflagelados uma vez que as substâncias alelopáticas não produzem efeito inibitório sobre este grupo de microrganismos. Outra linha de raciocínio discutida diz respeito à produção de substâncias com ação anti-herbivoria. Feofíceas produzem florotaninos que inibem o pastoreio de herbívoros. Tal fato torna esse grupo de macroalgas um substrato estável, menos susceptível à remoção por pastadores (TEIXEIRA et al., *op. cit.*). O mesmo ocorre com as grammas marinhas (*seagrasses*) cuja presença de alto teor de lignina reduz drasticamente o efeito de consumidores herbívoros. Tal fato vem de encontro à amplos relatos de feofíceas, rodofíceas e grammas marinhas como substrato preferencial de dinoflagelados epibentônicos.

No leste do Rio de Janeiro, Nascimento et al. (2008) descreveram a comunidade de dinoflagelados epibentônicos associados às rodofíceas *Laurencia* e *Amphiroa*, à feofíceas *Sargassum* e à clorofíceas *Codium*, durante uma situação de floração de *O. ovata* em Búzios, que causou a mortalidade de ouriços. Neste trabalho os autores relataram o acompanhamento do evento de floração desde quando *Ostreopsis* encontrava-se em baixas densidades celulares até o pós-floração, dentro de um período curto de tempo.

Aligizaki e Nikolaidis (2006a) referiram-se quanto à ocorrência e preferência dos dinoflagelados epífitos, *Ostreopsis* e *Coolia*, em relação aos substratos de macroalgas entre o fim do mês de julho e novembro dos anos de 2003 e 2004 no Mar Egeu. As máximas abundâncias ocorreram sobre macroalgas ramificadas, enquanto as densidades mais baixas tanto de *Ostreopsis* quanto de *Coolia* foram registradas nas macroalgas menos folhosas, como as clorofíceas. Estes autores detectaram *O. ovata* e *O. siamensis* no período compreendido entre o final de julho e novembro (final do outono) de 2003 e 2004; e estas duas espécies foram os dinoflagelados bentônicos mais abundantes ($4,05 \times 10^5$ células.g⁻¹ peso úmido de macroalgas). A temperatura da água apresentou grande variação durante este período (29,7 a 13,9°C) no norte do Mar Egeu. No inverno e na primavera não foram encontradas células vegetativas de *Ostreopsis*.

Em Vila et al. (2001) e Penna et al. (2005) *Ostreopsis* esteve presente durante todo um ciclo anual, apresentando níveis máximos de abundância entre os meses de março a setembro no Mediterrâneo. As células de *Ostreopsis* foram detectadas em 94% das amostras (dos 50 locais amostrados esteve presente em 47) e *Coolia* em 100% das amostras (nos 50 locais amostrados). Durante os meses de agosto e setembro de 2003 e 2004, as *Ostreopsis* dominaram a comunidade de epífitos acompanhada de *Coolia monotis*, *Prorocentrum lima*, *P. rhathymum*, *P. emarginatum* e *Amphidinium* spp., onde foi possível observar a olho nu a formação de uma mucilagem de cor amarronzada sobre as macroalgas. Este fenômeno foi comum sobre as feofíceas, como *Padina pavonica* e *Cystoseira* spp., no entanto, abundâncias significativas também foram observadas sobre as rodofíceas, *Corallina* sp. e *Ceramium* spp., e as mais baixas densidades sobre as clorofíceas, como o *Codium* sp., *Ulva* sp. e *Enteromorpha* sp.

De acordo com Chang et al. (2000) no Norte da Nova Zelândia as concentrações celulares de *Ostreopsis* spp foram mais elevadas no verão do que no início da primavera (novembro de 1995 a abril de 1997). Houve variação espacial. *O. siamensis* foi a espécie

dominante e outras espécies epífitas menos abundantes foram registradas nesse mesmo período, como *P. lima*, *P. compressum* e *Coolia monotis* (foram mais esporádicas em distribuição do que as *Ostreopsis* spp.). As temperaturas na superfície da água foram geralmente mais baixas do que 15°C de julho a setembro e maiores de fevereiro a abril (22°C).

5.3.2 Aspectos relativos à abundância dos dinoflagelados identificados

Considerou-se as espécies de macroalgas de ocorrência mais frequente na região estudada como substrato mais disponível para a presença de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos. Primeiramente foi calculada a densidade celular dos dinoflagelados por grama de peso seco de macroalga. À partir do conjunto de dinoflagelados presente em cada amostra de macroalga selecionada (as mais frequentes) foi calculada a abundância relativa destes dinoflagelados sobre *Padina*, *Sargassum*, *Codium*, *Caulerpa* e *Laurencia* (Tabela 06).

Tabela 06. Abundâncias relativas (valores percentuais) de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes nas macroalgas mais frequentes para a área de estudo (ilhas Guaíba e Marambaía, baía de Sepetiba), durante o período avaliado.

<i>Padina</i>												
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Coolia</i>	1,2	0,9	0	0	61,8	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ostreopsis</i>	46,1	92,7	77,3	97,5	18,9	99,6	97,8	96,3	99,5	99,1	35,9	96,2
<i>Prorocentrum</i>	52,6	6,4	22,7	2,5	19,3	0,4	2,2	3,7	0,5	0,9	64,1	3,8
<i>Sargassum</i>												
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Coolia</i>	0	0	0	0	nd	0	nd	nd	0	nd	0	0
<i>Ostreopsis</i>	33	52,2	94,9	98,5	nd	99,8	nd	nd	95,2	nd	23,7	92
<i>Prorocentrum</i>	67	47,8	5,1	1,5	nd	0,2	nd	nd	4,8	nd	76,3	8
<i>Codium</i>												
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Coolia</i>	62	0	nd	0	40	0	0	0	nd	0	0	0
<i>Ostreopsis</i>	27,6	13,7	nd	96,1	50	100	92,5	90,3	nd	96,4	55,2	36
<i>Prorocentrum</i>	10,4	86,3	nd	1,6	10	0	7,5	9,7	nd	3,6	44,8	64
<i>Caulerpa</i>												
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Coolia</i>	0	nd	0	0	15,8	0	0	0	0	0	nd	0
<i>Ostreopsis</i>	99,2	nd	36	100	84,2	100	99,9	100	98,8	97,4	nd	81,6
<i>Prorocentrum</i>	0,8	nd	64	0	0	0	0,1	0	1,2	2,6	nd	18,4
<i>Laurencia</i>												
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Coolia</i>	0	0	nd	nd	nd	0	0	0,5	nd	nd	nd	nd
<i>Ostreopsis</i>	37,3	98,2	nd	nd	nd	100	95,6	88,8	nd	nd	nd	nd
<i>Prorocentrum</i>	62,7	1,8	nd	nd	nd	0	4,4	10,7	nd	nd	nd	nd

nd – Macroalga ausente no mês citado.

5.3.2.1 No substrato *Padina gymnospora*

Ao considerarmos a feofíceia *Padina*, substrato mais frequente ao longo de todo o ano nos locais avaliados, observou-se abundâncias relativas muito baixas para *Coolia*: 1,2% em janeiro, 0,9% em fevereiro. Apenas para o mês de maio o dinoflagelado apresentou 61,8% de abundância relativa sobre este substrato (Figura 39). O aumento foi devido ao fato de que no mês de maio *Coolia* spp apresentou seu valor máximo de 141 células.g⁻¹ de peso seco de macroalga.

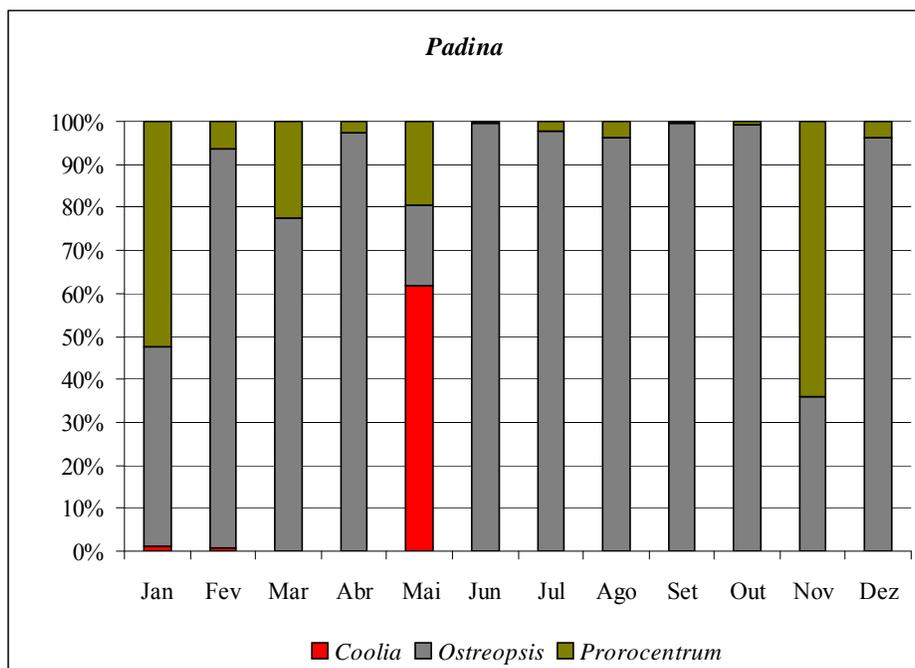


Figura 39. Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na feofíceia *Padina gymnospora*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado.

Ostreopsis spp. apresentou sempre as maiores abundâncias relativas, na maior parte do ano em *Padina*: em fevereiro (92,7%), março (77,3%), abril (97,5%), junho (99,6%), julho (97,8%), agosto (96,3%), setembro (99,5%), outubro (99,1%) e dezembro (96,2%). As exceções foram os meses de janeiro (46,1%), maio (18,9%) e novembro (35,9%). Em janeiro e novembro *Prorocentrum* foi o gênero que exibiu a maior abundância, com 52,6% e 64,1% respectivamente. Em maio, conforme citado anteriormente, *Coolia* sp. exibiu a maior abundância relativa dentre os dinoflagelados associados à *Padina*.

Prorocentrum exibiu maior número de táxons no mês de janeiro associado à feofíceia *Padina gymnospora* procedente da ilha Guaíba (Figura 40): *Prorocentrum* spp., *P. cf. concavum*, *P. cf. emarginatum*, *P. cf. lima*, *P. cf. mexicanum* e *P. micans*, dos quais *P. cf. concavum* foi o mais abundante (43%). Em fevereiro, março, agosto e novembro ocorreram apenas *Prorocentrum* spp. e *P. micans*. Nos meses de abril, junho, outubro e dezembro somente foram encontrados *Prorocentrum* spp. No mês de maio foram encontradas *P. cf. lima* e *P. cf. mexicanum*. Em julho e setembro somente ocorreu *P. micans*. O resultado encontra-se de acordo com a análise de variância bi-fatorial que apontou o padrão de ocorrência espacial e temporal significativo para *Prorocentrum* na ilha Guaíba durante o verão.

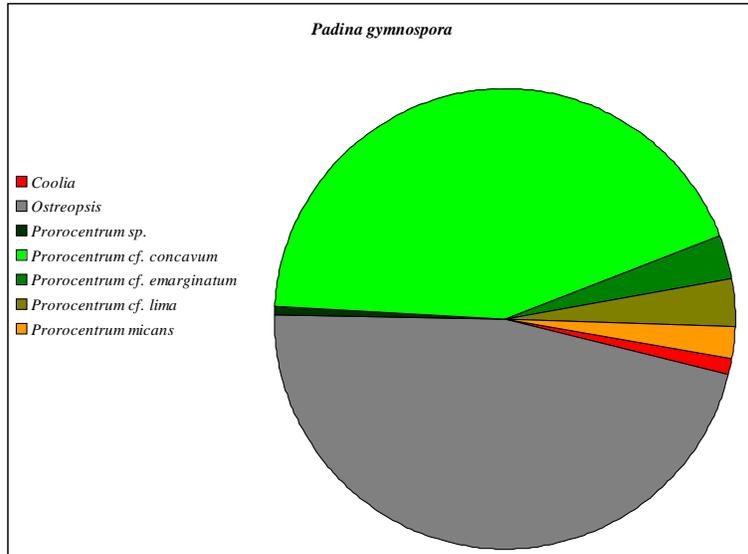


Figura 40. Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre a macroalga *Padina gymnospora* coletada no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ.

Em *Padina* foram encontradas as maiores densidades celulares de *Ostreopsis* cf. spp e *P. cf. concavum*, na ordem de 10^3 células. *Coolia* cf. spp e *Prorocentrum* cf. spp. apresentaram densidades celulares inferiores à 10^2 . *Prorocentrum* cf. *emarginatum*, *P. cf. lima* e *P. micans* exibiram densidades de poucas centenas de células por grama de peso seco de macroalga (Figura 41).

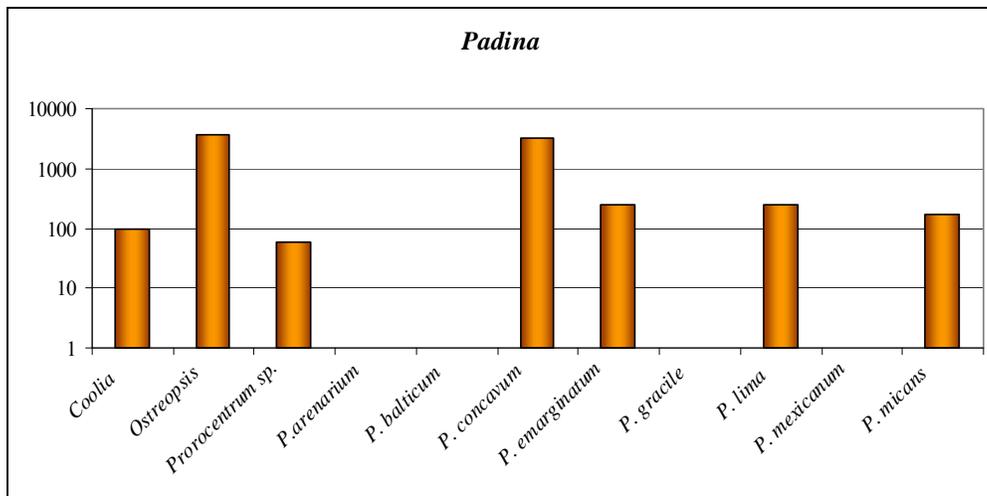


Figura 41. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na feofíceia *Padina* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células de dinoflagelados.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.

Delgado et al. (2006) encontraram associado à *Padina* uma variada comunidade de dinoflagelados epifíticos potencialmente tóxicos: *Gambierdiscus toxicus*, *P. lima*, *P. belizeanum*, *P. mexicanum* e *P. concavum* (encontrados ao longo de todo o ano durante 1999-2000), *Coolia monotis* e *Ostreopsis lenticularis* (de 2001-2002), em águas costeiras de Cuba. Na Malásia, Mohammad-Noor et al. (2007) focaram a procura por dinoflagelados

epifíticos em *Padina* e *Sargassum*. A composição da comunidade constituiu-se por nove gêneros de dinoflagelados dos quais destacaram-se *Prorocentrum arenarium*, *P. concavum*, *P. emarginatum*, *P. cf. faustiae*, *P. foraminosum*, *P. formosum*, *P. lima*, *P. norrisianum*, *P. rhathymum*, *P. sculptile*, *P. sipadanensis*, *Gambierdiscus pacificus*, *Coolia* sp., *Ostreopsis labens*, *O. lenticularis*, *O. ovata*. Estes autores assinalaram *P. lima* e *O. ovata* como as espécies mais abundantes nesta região. No mar Egeu, na Grécia, Aligizaki et al. (2009) encontraram *Prorocentrum* com maiores abundâncias associados à *Padina pavonica* e à rorodíceas, no período de final de verão e início de outono. A ocorrência de *P. rhathymum*, *P. emarginatum* e *P. borbonicum* também foi registrada.

O dinoflagelado *P. cf. lima* potencialmente produtor da toxina diarréica AO, já detectada em moluscos da ilha Guaíba (FERREIRA et al., no prelo), foi relatado com densidades celulares baixas pelo presente trabalho: 250 células em janeiro e 33 células no mês de maio, sempre na ilha Guaíba. Estas baixas densidades, durante o período analisado, indicam que a espécie não apresentou perigo de contaminação aos moluscos cultivados na região. No entanto, vários relatos apontam para uma variação tanto sazonal quanto interanual nas populações de *P. lima*, ressaltando a necessidade de monitorar constantemente sua ocorrência para garantir a segurança sanitária, em relação às toxinas diarréicas, principalmente em áreas de cultivo de moluscos. Essa espécie produz toxinas diarréicas apenas durante situação de floração (REGUERA, 2002).

5.3.2.2 No substrato *Sargassum* spp.

Sargassum não ocorreu nos meses de maio, julho, agosto e outubro nos dois locais amostrados. A presença de *Coolia* spp. não foi observada em nenhuma das amostras de *Sargassum* (Figura 42). *Prorocentrum* ocorreu em alta abundância relativa no final da primavera (maior abundância em novembro 76,3%) e verão (janeiro com 67%, fevereiro com 47,8%), exceto no mês de dezembro (8%); no outono/inverno apresentou as menores abundâncias relativas (<5%). *Ostreopsis* apresentou as maiores abundâncias relativas no outono/inverno: 52,2% em fevereiro, 94,4% em março, 98,5% em abril, 99,8% em junho, 95,2% em setembro. As menores abundâncias de *Ostreopsis* ocorreram em janeiro (33%) e novembro (23,7%).

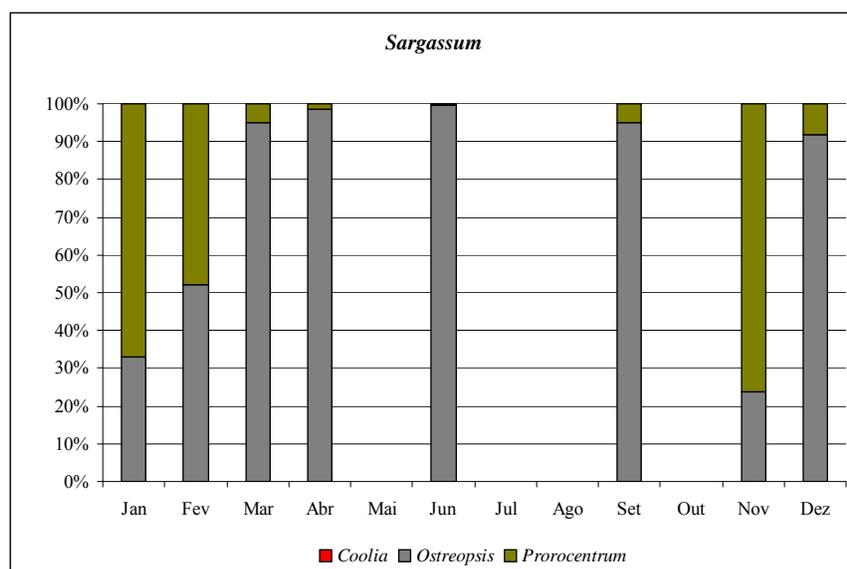


Figura 42. Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na feofíceia *Sargassum*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado.

Obedecendo ao mesmo padrão de distribuição espaço temporal anteriormente visto em *Padina*, *Prorocentrum* apresentou para o mês de janeiro (Figura 43) na ilha Guaíba sua maior riqueza (sete táxons) e as maiores densidades celulares: *Prorocentrum* spp. (1285 células.g⁻¹), *P. cf. concavum* (289 células.g⁻¹), *P. cf. emarginatum* (53 células.g⁻¹), *P. gracile* (28 células.g⁻¹), *P. lima* (272 células.g⁻¹), *P. cf. mexicanum* (149 células.g⁻¹), *P. micans* (1400 células.g⁻¹) conforme observado na Figura 44. O mesmo padrão foi observado para as abundâncias relativas de *Prorocentrum*. Na ilha da Marambaía ocorreu uma acentuada diminuição na presença deste gênero: *Prorocentrum* spp. (30 células.g⁻¹), *P. gracile* (2 células.g⁻¹) e *P. micans* (22 células.g⁻¹).

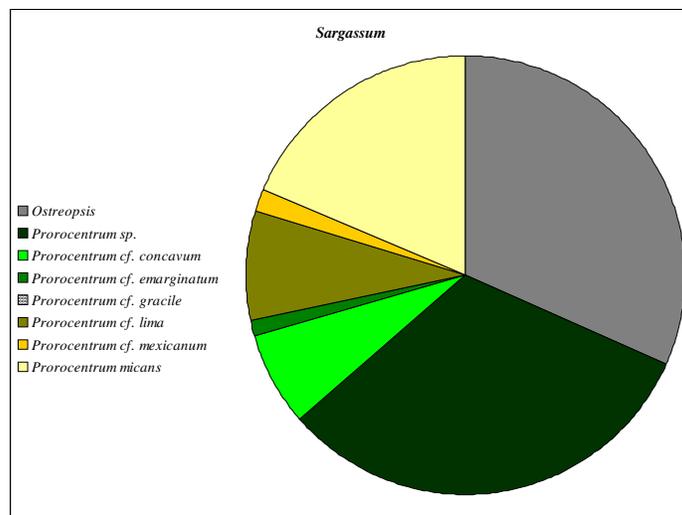


Figura 43. Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre *Sargassum* coletado no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ.

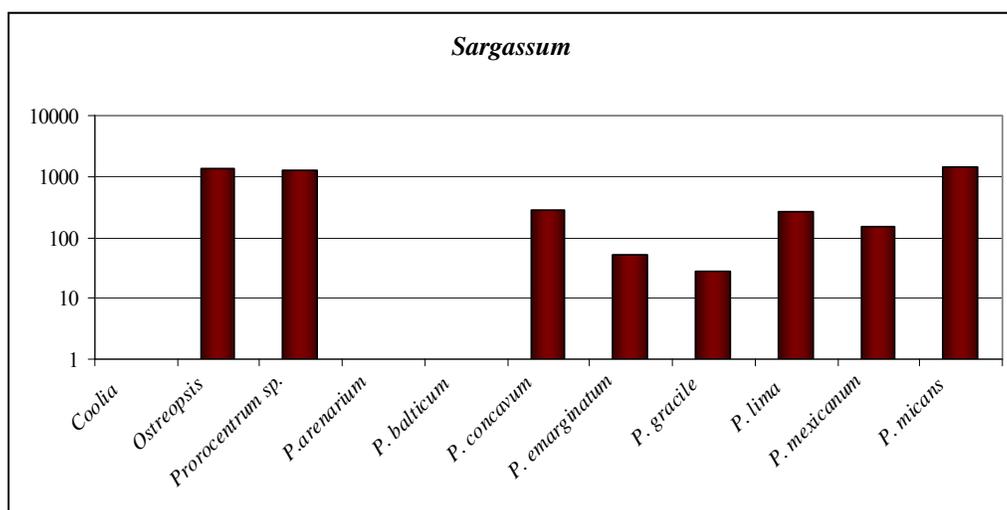


Figura 44. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na feofíceia *Sargassum* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.

A riqueza de táxons diminuiu para dois no decorrer do ano (*Prorocentrum* spp. e *P. micans* em fevereiro, março, abril e setembro) ou apenas um (*Prorocentrum* spp. em dezembro e agosto). Novembro exibiu um novo aumento na ocorrência das espécies: *Prorocentrum* spp., *P. cf. emarginatum*, *P. gracile*, *P. cf. lima* e *P. micans*. Não há relato para os meses de maio, julho, agosto e outubro devido à ausência do substrato *Sargassum* nos locais amostrados. Em janeiro, para este substrato, foi verificada as maiores abundâncias de *Prorocentrum*, resultado este que se encontra em consonância com a ANOVA bi-Fatorial realizada para avaliar a distribuição espacial e temporal deste gênero.

5.3.2.3 No substrato *Codium* spp.

Nos meses de março e setembro a macroalga *Codium* não foi encontrada nas ilhas Guaíba e Marambaía. Para este substrato *Codium* spp apresentou abundância relativa alta, ocorrendo somente nos meses de janeiro com 62% e no mês de maio com 40%, que corresponderam à 220 e 204 células.g⁻¹ de peso seco de macroalga, respectivamente (Figura 45). Nos substratos de macroalgas analisados *C. monotis* ocorreu associada principalmente sobre a macroalga verde *Chaetomorpha* sp.

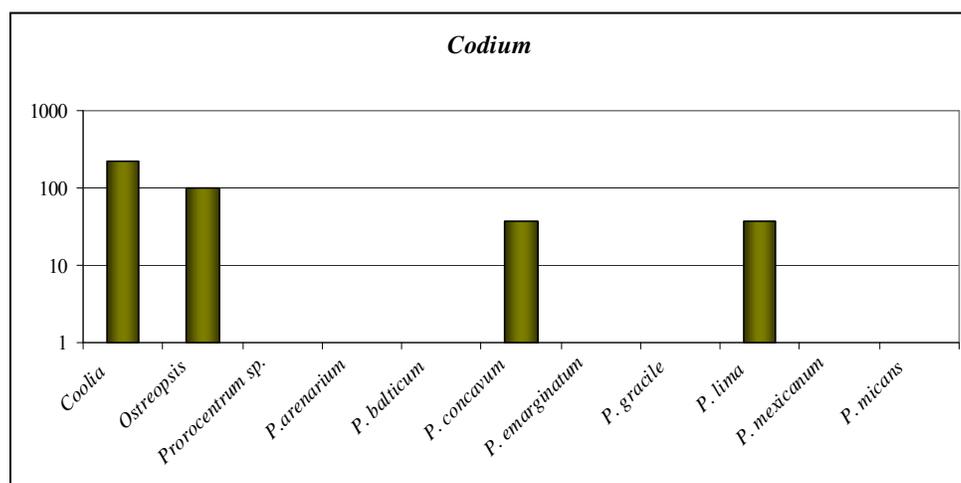


Figura 45. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na clorofícea *Codium* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.

Para *Ostreopsis* spp as maiores abundâncias foram observadas no outono/inverno (96,1% em abril, 100% em junho, 92,5% em julho, 90,3% em agosto). Em maio *Ostreopsis* spp continuou apresentando uma grande abundância (50%) se comparada à *Coolia* spp (40%) e *Prorocentrum* (10%). A abundância máxima de 100% foi observada apenas no mês de junho. Em outubro foi observado um aumento na abundância de *Ostreopsis* spp (96,4%) que foi reduzida em direção aos meses de verão (55,2% em novembro e 36% em dezembro) conforme ressaltado na Figura 46. Estes resultados apresentam-se de acordo com o padrão de distribuição temporal de *Ostreopsis* evidenciado pela ANOVA bi-fatorial.

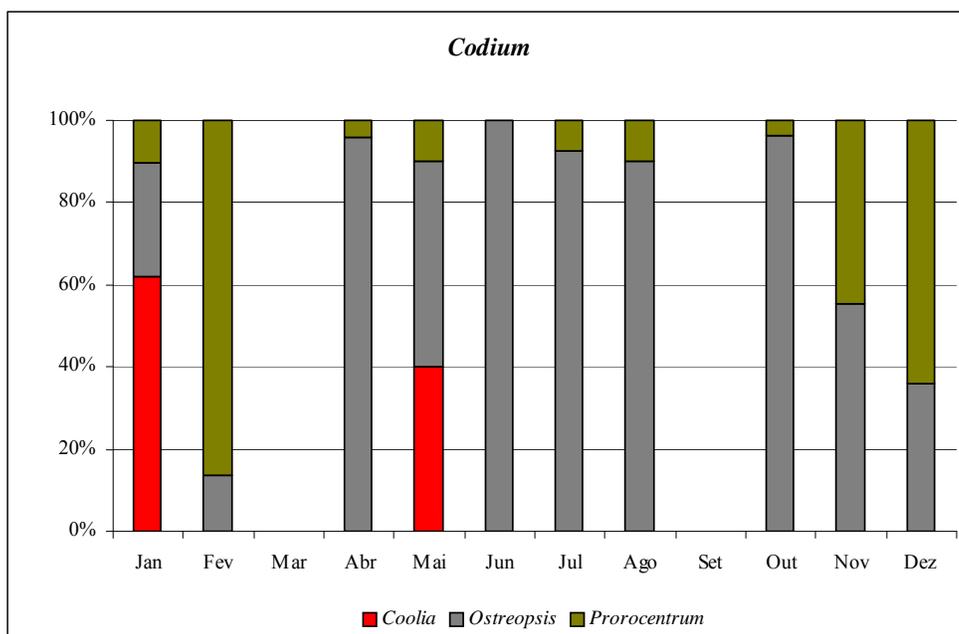


Figura 46. Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na clorofíceia *Codium*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado.

Prorocentrum apresentou sua abundância máxima nos meses de verão (86,3% em fevereiro, 64% em dezembro) e no final da primavera 44,8% em novembro. A exceção foi o mês de janeiro com baixa abundância (10,4%). Nos meses de outono/inverno sua abundância foi inferior a 10%. Em relação à riqueza de espécies deste gênero foi encontrado um total de seis táxons distribuídos ao longo de todo o ano (*Prorocentrum* spp., *P.cf. concavum*, *P. gracile*, *P. cf. lima*, *P. cf. mexicanum* e *P. micans*). Não foi observado no verão um aumento na riqueza de *Prorocentrum* conforme relatado para *Padina* e *Sargassum*. Em janeiro foram encontrados *P. cf. concavum* e *P. cf. lima*; em fevereiro, abril, julho, agosto, outubro e novembro *Prorocentrum* spp. e *P. micans*; em maio *P. gracile* e *P. cf. mexicanum*; em junho este gênero não foi observado; em dezembro *Prorocentrum* spp. e *P.cf. lima*.

Considerando-se a amostra de janeiro obtida na ilha Guaíba, local apontado como preferencial para a distribuição espacial de *Prorocentrum* pela ANOVA bi-fatorial, observou-se a presença de apenas duas espécies de *Prorocentrum*, em baixas densidades celulares (37 células.g⁻¹) e abundâncias (9%) para *P. cf. concavum* e *P.cf. lima* (Figura 47). Comparando-se às feofíceas *Padina* e *Sargassum*, tanto em relação à riqueza de *Prorocentrum* quanto sua abundância relativa, a clorofíceia *Codium* apresentou-se como um substrato não preferencial para este gênero de dinoflagelados.

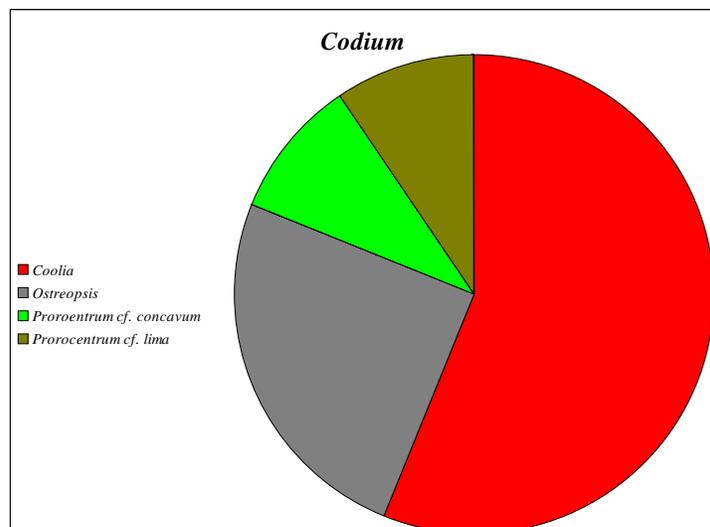


Figura 47. Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre *Codium* coletado no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ.

5.3.2.4 No substrato *Caulerpa* spp.

Caulerpa esteve presente ao longo do ano, exceto nos meses de fevereiro e novembro. A maior abundância relativa para *Coolia* spp foi registrada somente no mês de maio, com 15,8%. *Ostreopsis* spp. esteve presente em todas as amostra de *Caulerpa* apresentando as maiores abundância relativas neste substrato (99,2% em janeiro, 100% em abril, 84,2% em maio, 100% em junho e agosto, 99,9% em julho, 98,8% em setembro, 97,4% em outubro e 81,6% em dezembro). A menor abundância relativa de *Ostreopsis* spp. ocorreu em março quando *Prorocentrum* exibiu uma abundância relativa máxima de 64% (Figura 48).

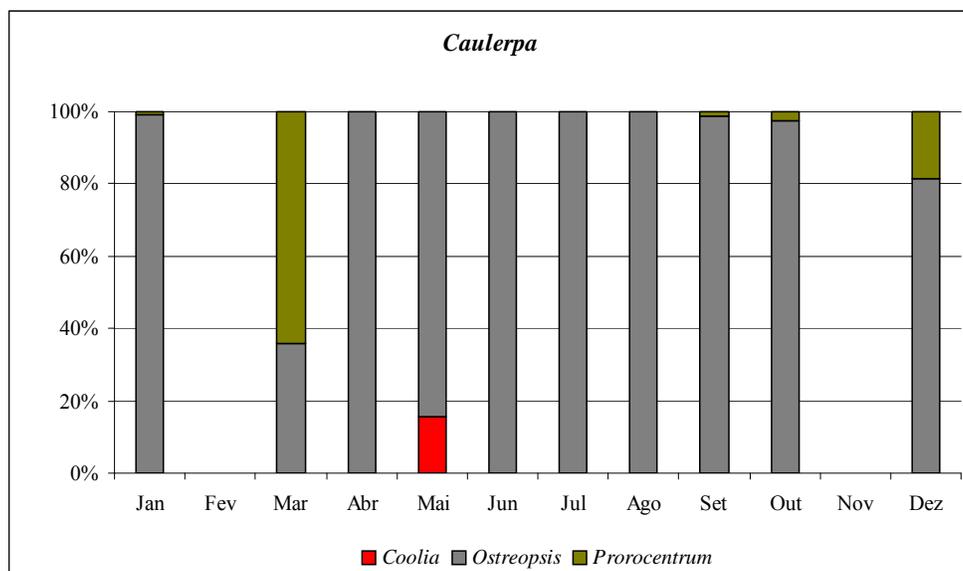


Figura 48. Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na clorofíceia *Caulerpa*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado.

Ostreopsis spp. foi o dinoflagelado que apresentou as maiores densidades celulares para este substrato: 4701 células.g⁻¹ em janeiro, 4939 células.g⁻¹ em junho, 4030 células.g⁻¹ em julho, 3855 células.g⁻¹ em agosto, 3092 células.g⁻¹ em setembro, 1865 células.g⁻¹ em outubro. Os meses de dezembro, fevereiro, abril e maio exibiram densidades celulares baixas (48-557 células.g⁻¹).

Os substratos anteriores exibiram uma maior riqueza de espécies de *Prorocentrum* sempre no mês de janeiro na ilha Guaíba, em conformidade com os resultados da ANOVA bi-fatorial para este gênero. No entanto na clorofíceia *Caulerpa* este padrão não foi observado (Figura 49). Observou-se apenas *Prorocentrum micans*. Sobre o substrato *Caulerpa* ocorreram apenas três táxons de *Prorocentrum*: *Prorocentrum* spp., *P. gracile* e *P. micans*, em densidades celulares da ordem de 10², exceto em fevereiro com *P. micans* (915 células.g⁻¹). Este gênero de dinoflagelados esteve presente apenas nos meses de janeiro, fevereiro, julho, setembro, outubro e dezembro sobre este substrato.

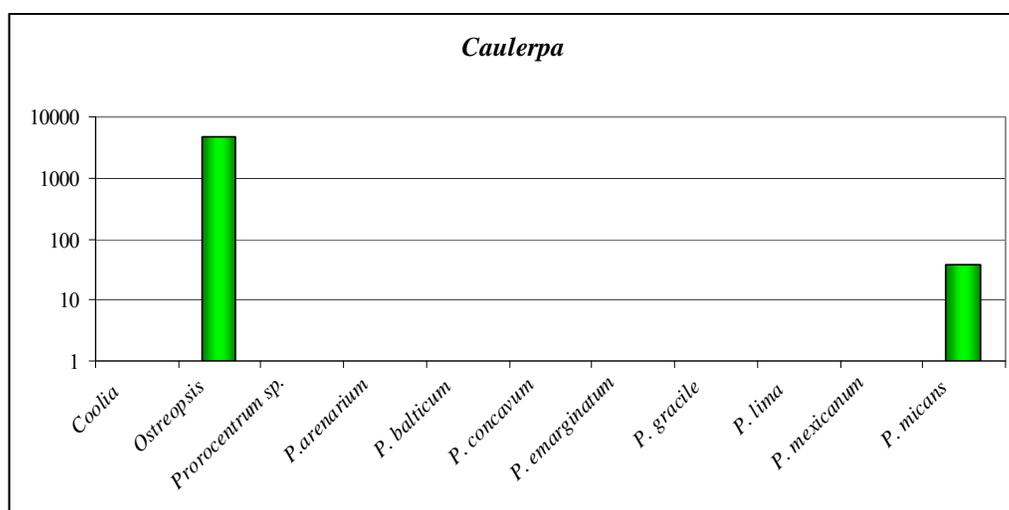


Figura 49. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na clorofíceia *Caulerpa* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.

5.3.2.5 No substrato *Laurencia* spp.

A rodofíceia *Laurencia* foi registrada apenas nos meses de janeiro, março, junho, julho e agosto (Figura 50) com presença de duas espécies: *L. catarinensis* e *L. translucida*. Apesar da sua baixa ocorrência ao longo do período estudado, sobre este substrato foram observados todos os táxons dos gêneros *Prorocentrum* e *Ostreopsis* identificados no presente trabalho. Porém nenhuma célula de *Coolia* spp. foi observada sobre o substrato destas rodofíceas ao longo de todo o período analisado.

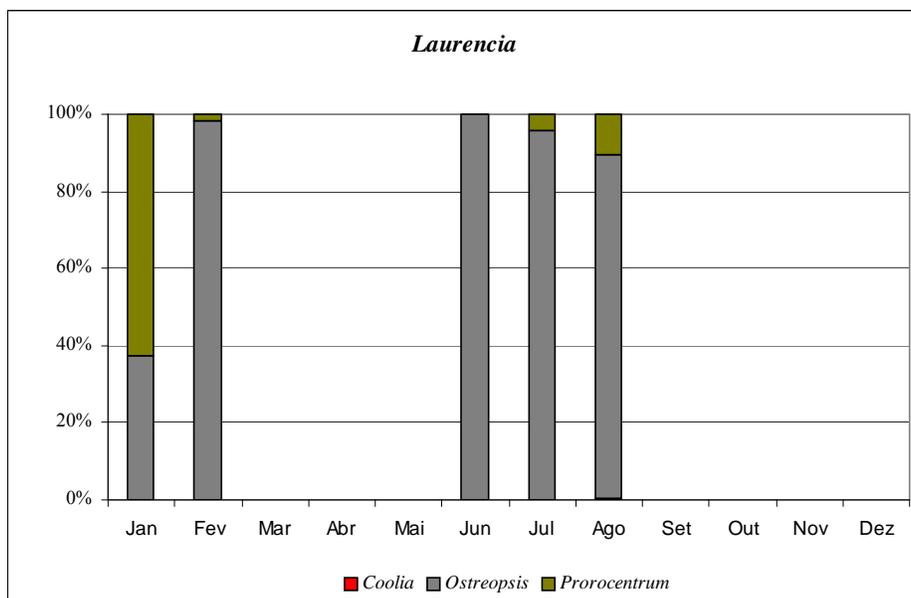


Figura 50. Abundância relativa de dinoflagelados epifíticos potencialmente nocivos na rodofícea *Laurencia*, amostrada nas ilhas Guaíba e Marambaía, durante o período analisado.

Ostreopsis foi o dinoflagelado que exibiu as maiores abundâncias relativas: 98,2% em fevereiro, 100% em junho, 95,7% em julho e 88,8% em agosto. Sua abundância mínima ocorreu em janeiro (37,3%), quando *Prorocentrum* exibiu sua máxima abundância (62,7%).

No mês de janeiro, na ilha Guaíba, ocorreram todos os táxons identificados (exceto *Coolia*) associados à *Laurencia catarinensis* (Figura 51). O somatório da abundância relativa de todos os oito táxons de *Prorocentrum* presentes em janeiro fez com que este gênero ultrapassasse *Ostreopsis* em abundância. Dos prorocentroides presentes *P. micans* foi o mais abundante (22%) seguido por *Prorocentrum* spp. (17%), *P. cf. mexicanum* (10%), *P. cf. lima* (5%), *P. cf. emarginatum* (4%), *P. cf. concavum* (2%), *P. gracile* (1%), *P. cf. arenarium* e *P. cf. balticum* (0,5% cada). Nos demais meses a riqueza de *Prorocentrum* reduziu, apenas uma espécie em fevereiro (*Prorocentrum* spp.), duas em agosto (*Prorocentrum* spp. e *P. micans*) e três em julho (*Prorocentrum* spp., *P. cf. emarginatum* e *P. micans*). Delgado et al. (2006) registraram *P. lima* associado a rodofíceas em abundâncias relativas da ordem de 85%, superior à abundância relativa encontrada no presente estudo para o verão.

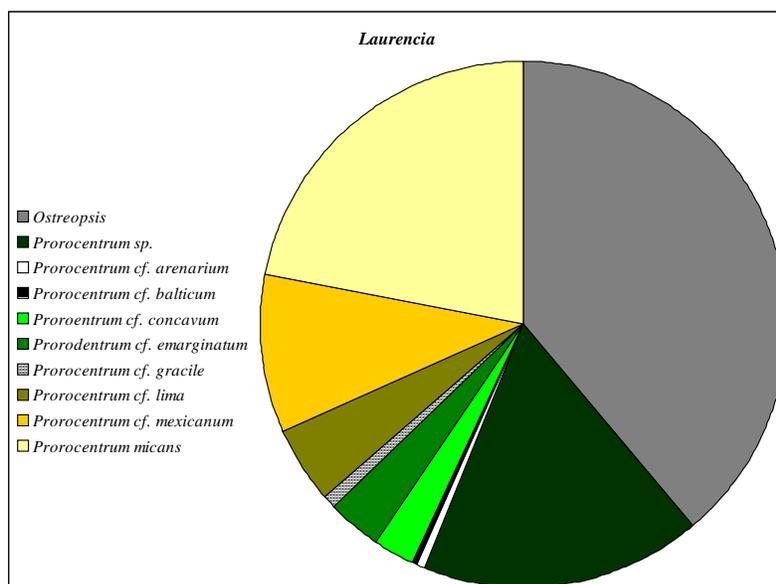


Figura 51. Abundância relativa de dinoflagelados potencialmente nocivos presentes sobre *Laurencia* coletado no mês de janeiro de 2008 na ilha Guaíba, baía de Sepetiba, RJ.

Ostreopsis apresentou densidades celulares da ordem de $1 - 7,2 \times 10^3$ células (média de 4762 células. g^{-1} de peso seco de macroalga), associadas à *Laurencia*, exceto no mês de julho (10^2 células. g^{-1}). Em relação à *Prorocentrum* pode-se verificar o mesmo padrão, tais como, densidades máximas no verão (Figura 52) que apresentavam acentuada queda em direção ao inverno. A espécie deste gênero que apresentou maior densidade celular em janeiro foi *P. micans* (com 2682 células. g^{-1}), e não foi observada em fevereiro e junho, e esteve presente em julho (86 células. g^{-1}) e agosto (378 células. g^{-1}). Os demais prorocentroides exibiram densidades celulares de $0,8 \times 10^2$ células (*P. cf. arenarium* e *P. cf. balticum*) e $2-6 \times 10^2$ células (*P. cf. concavum*, *P. cf. emarginatum*, *P. cf. lima* e *P. cf. mexicanum*) somente no mês de janeiro.

Ressalte-se que *P. lima*, relatado na literatura como potencialmente produtor de toxinas diarreicas, apresentou as maiores densidades celulares encontradas no presente trabalho associado ao substrato *Laurencia* em janeiro na ilha Guaíba ($259-870$ células. g^{-1} de peso seco de macroalga). Densidades consideradas baixas se comparada ao encontrado na literatura (10^3-10^4 células), porém associado às feofíceas *Padina sp.* e *Dictyota dicotoma* (DELGADO et al., 2006). Nascimento et al. (2008) relataram *P. lima* ocorrendo junto a uma floração de *O. ovata* em Búzios (RJ), apresentando sua densidade celular variando entre $100-1302$ células. g^{-1} de peso úmido de macroalga associada à *Laurencia*. Fora da situação de floração *P. lima* também ocorreu sobre rodofíceas (*Amphiroa fragilíssima*) exibindo densidades baixas de $30-230$ células. g^{-1} de peso úmido de macroalga.

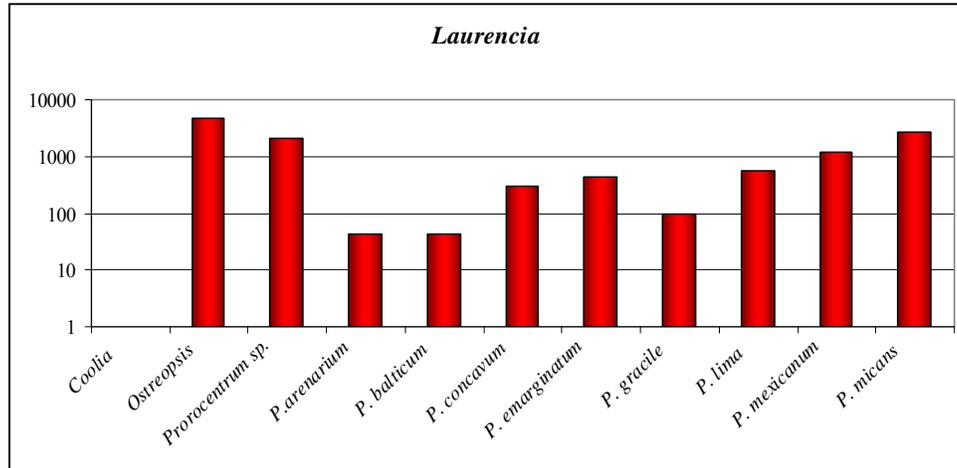


Figura 52. Densidade celular dos dinoflagelados presentes na rodofíceia *Laurencia* na ilha Guaíba em janeiro de 2008. Unidade: número de células.grama⁻¹ de peso seco de macroalga. Eixo das ordenadas em escala logarítmica.

5.4 Influência dos Fatores Abióticos na Distribuição dos Dinoflagelados Epibentônicos

Buscou-se ordenar as espécies previamente selecionadas pela ANOVA bi-fatorial *Ostreopsis* e *Prorocentrum* (por apresentarem um padrão de distribuição sazonal ou espacial) e os grupos de macroalgas (agrupados por pigmentos) às variáveis abióticas mensuradas: temperatura da água do mar, salinidade e profundidade do desaparecimento do disco de Secchi (Tabela 07). Dessa forma criando uma matriz de dados bióticos e abióticos que possibilitou a projeção das amostras em um plano formado por dois eixos principais, gerando assim uma imagem simplificada dessa estrutura multidimensional. Para isso utilizou-se a Análise de Redundância Canônica (RDA) que, ao posicionar todos os dados gerados em relação aos eixos definidos, buscou possibilitar a visualização das inter-relações ecológicas existentes nesse universo de informações geradas (VALENTIN, 2000).

Tabela 07. Variação dos fatores abióticos mensurados nas ilhas Guaíba e Marambaía, baía de Sepetiba (RJ) durante o período de janeiro a dezembro de 2008.

Meses	Temperatura (°C)		Salinidade		Profundidade Secchi	
	Guaíba	Marambaía	Guaíba	Marambaía	Guaíba	Marambaía
Jan	25	24	36,5	35	2,3	0,7
Feb	22	22	34	34	3	0,6
Mar	27	24	33	35	3	0,7
Abr	25	25	34	35,5	2,5	0,5
Mai	25	25	35,5	35,5	1,9	0,3
Jun	23,5	22	35,5	37	1,5	0,4
Jul	22	22	37	38	1,8	0,7
Aug	23	22	35,5	37	2	0,8
Set	21	21	35	35	2,5	1
Out	22	24	37,5	36	3,4	0,9
Nov	22	25	34	35,5	3	0,7
Dez	25	23	35	36	2	0,5

Foram realizadas RDA's para cada um dos grupos de dinoflagelados selecionados, os três grupos de macroalgas em cada um dos locais estudados e as variáveis abióticas mensuradas. Porém apenas para *Prorocentrum* na ilha Guaíba o Teste de Permutações de Monte Carlo selecionou como variáveis significativas a temperatura e a salinidade. O primeiro plano canônico selecionado foi definido pela temperatura e o segundo plano pela salinidade (Tabela 08). Os RDA's para *Ostreopsis* resultaram não significativos para os dois locais avaliados, portanto os gráficos e tabelas de autovalores não foram apresentados nesta tese.

Tabela 08. Resultado do teste de Monte Carlo para significância das relações entre parâmetros e variáveis ambientais e distribuição de dinoflagelados *Prorocentrum* spp. ($p \leq 0,05$) na ilha Guaíba, baía de Sepetiba.

Variável	Lambda A	Efeitos condicionais	
		p	F
Temperatura	0.24	0.039	3.90
Profundidade Secchi	0.13	0.125	2.38
Salinidade	0.32	0.056	3.72

Na presente pesquisa o plano canônico resultante da Análise de Redundância Canônica explicou 56,2% da variância (inércia) total dos dados, ou da distribuição do gênero *Prorocentrum* em relação aos grupos de macroalga e tempo na ilha Guaíba. Sendo 56,1% no primeiro modo de variação (Eixo 1), e 0,1% no segundo modo (Eixo 2), conforme visto na Figura 53. Apenas dois eixos devem ser considerados aqui, pois apenas duas variáveis apresentaram relação significativa com a distribuição das espécies estudadas (Tabela 09).

Tabela 09. Autovalores e inércia total obtido através da análise de redundância a partir dos parâmetros e variáveis abióticos fornecidos. Modelo original: primeira análise antes do teste de significância com todas as variáveis abióticas; Modelo final: contendo apenas as variáveis significativamente relacionadas à distribuição de *Prorocentrum* spp., na ilha Guaíba, selecionadas pelo Teste de Monte Carlo.

Eixo	Autovalores				Variância total
	1	2	3	4	
Modelo original	0.685	0.001	0.193	0.120	1.000
Modelo final	0.561	0.001	-	-	1.000

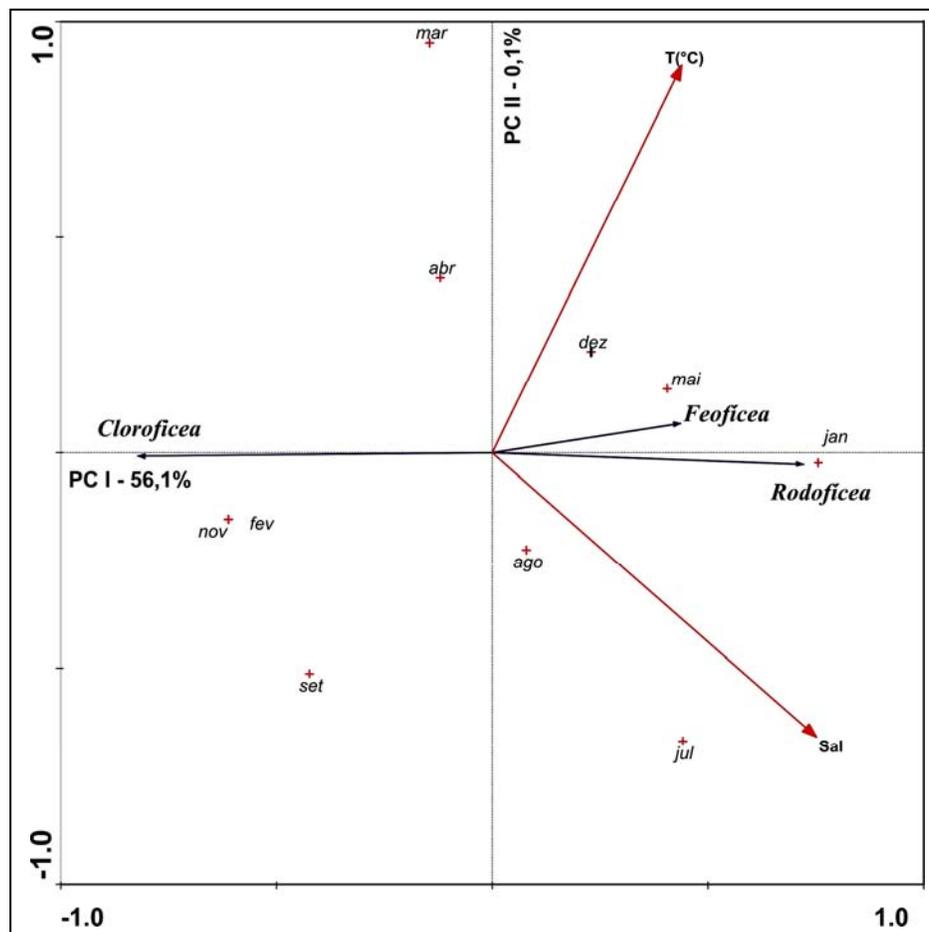


Figura 53. Plano canônico da Análise de Redundância (RDA) utilizando a matriz de abundâncias de dinoflagelados (espécies de *Prorocentrum*), macroalgas agrupadas por pigmento e a matriz de variáveis ambientais significativas temperatura (modo principal de variação, Eixo I) e salinidade (modo secundário de variação, Eixo II).

Conforme visualizado no eixo principal do plano canônico, modulado pela temperatura, *Prorocentrum* foi associado às rodofíceas e feofíceas quando ocorreu aumento na temperatura, principalmente nos meses de janeiro, maio e dezembro onde essa variável se manteve em 25°C. Conforme foi relatado anteriormente, as maiores densidades celulares para *Prorocentrum* (*P. cf. concavum*, *P. cf. lima*, *P. cf. mexicanum*, *P. cf. micans*) deram-se em janeiro sobre as rodofíceas *Laurencia catarinensis*, *Canistrocarpus cervicornis*, e a feofíceia *Padina gymnospora*; em maio *P. cf. mexicanum* e *P. cf. lima* associados à *P. gymnospora*; e em dezembro *Padina* e *Sargassum vulgare*. Quando verificou-se a redução na temperatura *Prorocentrum* associou-se preferencialmente à clorofíceas, como visto nos meses de setembro (*Codium taylorii* e *Caulerpa sertularioides*), novembro (*Caulerpa* spp.) e fevereiro (*Codium decortiatum*). Como o primeiro eixo explicou o maior percentual da variância dos dados, a temperatura foi o principal fator abiótico a modular a distribuição de *Prorocentrum* na ilha Guaíba durante o período analisado.

A salinidade exerceu pouca influência na distribuição de *Prorocentrum*, explicando apenas 0,1% da variação dos dados no plano canônico. Conforme pode ser visto valores mais altos de salinidade encontram-se mais relacionados aos meses de julho, agosto,

setembro onde há normalmente aumento na salinidade devido à redução das chuvas. Não ficou clara a relação entre os grupos de macroalgas, substrato para os *Prorocentrum* epifíticos estudados, e a salinidade. Notar que os grupos de macroalgas ficaram dispostos praticamente paralelos ao eixo x (eixo da temperatura) e se fossem projetados no eixo II do plano canônico ficariam próximos de zero.

6 CONCLUSÕES

- Constatou-se a presença de dinoflagelados epibentônicos potencialmente tóxicos e nocivos nas duas áreas investigadas (ilhas Guaíba e Marambaia) da baía de Sepetiba, RJ, durante o período analisado.
- Foram identificados 11 morfotipos de dinoflagelados associados aos substratos de macroalgas analisados. Destes 8 são bentônicos ou epifíticos e 3 são relatados como planctônicos. São considerados potencialmente toxígenos: *Coolia* spp., *Prorocentrum* cf. *arenarium*, *P.* cf. *concovum*, *P.* cf. *lima*, *P.* cf. *mexicanum* e *Ostreopsis* spp.; dois são potencialmente nocivos: *P.* cf. *balticum* e *P. micans* (formadores de floração); e dois não são tóxicos: *P. emarginatum* e *P. gracile*.
- *Ostreopsis* spp. foi o táxon mais frequente e abundante nos dois locais durante todo o período avaliado. Apenas no outono houve variação na sua distribuição entre a ilha Guaíba e Marambaia. As densidades celulares médias foram consideradas altas, na ordem de 10^3 . *Ostreopsis* spp. deve ser considerado um perigo para a contaminação de moluscos bivalvos ao longo de todo o ano.
- *Prorocentrum* spp. apresentou marcada diferença na sua distribuição, sendo sempre mais abundante na ilha Guaíba. Em relação ao tempo apresentou maior riqueza e densidades celulares médias em janeiro (verão), na ordem de 10^2 .
- A presença das espécies potencialmente tóxicas *P.* cf. *concovum*, *P.* cf. *lima*, e *P.* cf. *mexicanum* (produtores de AO, DTXs e toxinas FAT) em baixas densidades celulares dentro do período analisado não foi considerada um perigo para a produção de toxinas diarreicas e consequente contaminação dos moluscos cultivados e extraídos de bancos naturais na região. No entanto, ressalta-se a necessidade de monitoramento nos dois locais investigados, visto que, as populações das espécies relatadas apresentam variação tanto sazonal quanto interanual havendo a necessidade de salvaguardar a saúde pública e garantir a qualidade higiênico-sanitária do molusco comercializado na região.
- *Padina gymnospora* foi o substrato mais frequente ao longo de todo o ano onde os dinoflagelados potencialmente tóxicos exibiram densidades altas. *Laurencia* spp. foi o substrato onde ocorreu a maior riqueza de *Prorocentrum*. Para fins de monitoramento *Padina gymnospora* e *Laurencia* spp. constituem excelentes substratos para se investigar a ocorrência de dinoflagelados potencialmente nocivos.
- A temperatura foi o principal fator abiótico a modular a distribuição de *Prorocentrum* na ilha Guaíba durante o período analisado. As maiores densidades celulares de *Prorocentrum* foram verificadas no verão sobre rodofíceas e feofíceas quando ocorreu aumento de temperatura. A salinidade exerceu pouca influência na distribuição deste grupo sobre os substratos de macroalgas.

7 RECOMENDAÇÕES

- Para fins de monitoramento das áreas de produção investigadas na presente pesquisa, quanto à presença de espécies de dinoflagelados epibentônicos potencialmente tóxicos e/ou nocivos, recomenda-se a coleta do substrato *Padina gymnospora*, por ser o substrato mais frequente ao longo de todo o ano nos dois locais avaliados onde os dinoflagelados de interesse ocorreram em densidades celulares altas; E *Laurencia* spp. por ter exibido a maior riqueza de dinoflagelados do gênero *Prorocentrum*.
- Em função das maiores densidades celulares de dinoflagelados de interesse ocorrer no verão e outono, recomenda-se que nestes períodos a frequência amostral deva ser intensificada. Pois essa época do ano é mais susceptível à ocorrência de florações bentônicas nocivas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, J.; AUÐUNSSON, G. A.; BENFORD, D.; COCKBURN, A.; CRAVEDI, J.-P.; DOGLIOTTI, E.; DI DOMENICO, A.; FERNÁNDEZ-CRUZ, M. L.; FINK-GREMMELS, J.; FÜRST, P.; GALLI, C.; GRANDJEAN, P.; GZYL, J.; HEINEMEYER, G.; JOHANSSON, N.; MUTTI, A.; SCHLATTER, J.; VAN LEEUWEN, R.; VAN PETEGHEM, C.; VERGER, P. Marine biotoxins in shellfish – okadaic acid and analogues. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain (Question No EFSA-Q-2006-065A) (2008). **The EFSA (European Food Safety Authority) Journal**, v. 589, p. 1-62, 2008.

ALIGIZAKI, K.; NIKOLAIDIS, G. The presence of the potentially toxic genera *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) in the North Aegean Sea, Greece. **Harmful Algae**, v. 5, p. 717-730, 2006.

ALIGIZAKI, K.; KATIKOU, P.; NIKOLAIDIS, G.; PANOU, A. First episode of shellfish contamination by palytoxin-like compounds from *Ostreopsis spcies* (Aegean Sea, Grece). **Toxicon**, v. 51, p. 418-427, 2008.

ALIGIZAKI, K.; NIKOLAIDIS, G.; KATIKOU, P.; BAXEVANIS, A. D.; ABATZOPOULOS, T. J. Potentially toxic epiphytic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species in Greek coastal waters. **Harmful Algae**, v. 8, n. 2, p. 299-311, 2009.

AMADO-FILHO, G. M.; BARRETO, M. B. B. B.; MARINS, B. .; FELIX, C.; REIS, R. P. Estrutura das comunidades fitobentônicas do infralitoral da Baía de Sepetiba, J, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 3, p. 329-342, 2003.

ANDERSON, D. M.; WHITE, A. W.; BADEN, D. G. **Toxic Dinoflagellates**, Elsevier, New York. 561 p, 1985.

ANDERSON, D. M.; GLIBERT, P. M.; BURKHOLDER, J. M. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. **Estuaries**, v. 25, n. 4b, p. 562–584, 2002.

ANDERSON, D. M. **The Growing Problem of Harmful Algae**. 2004. Disponível em: <<http://www.whoi.edu/oceanus/viewArticle.do?id=2483>>. Acesso em: 20 nov. 2008.

ANDERSON, D. M.; BURKHOLDER, J. M.; COCHLAN, W. P.; GLIBERT, P. M.; GOBLER, C. J.; HEIL, C. A.; KUDELA, R. M.; PARSONS, M. L.; JACK RENSEL, J. E.; TOWNSEND, D. W.; TRAINER, V. L.; VARGO, G. A. Harmful algal blooms and eutrophication: examining linkages from selected coastal regions of the United States. **Harmful Algae**, v. 8, n. 1, p. 39-53, 2008.

ARANA, L. V. **Fundamentos de Aqüicultura**. Florianópolis: UFSC, 2004. 349 p.

ARCILA-HERRERA, H.; MENDOZA-AYORA, J.; GONZÁLEZ-FRANCO, M. F.; MONTEIRO-CERVANTE, L.; CASTELO-NAVARRETE, A. Revisión de una enfermedad poco conocida: la ciguatera. **Rev. Biomed.**, v. 12, p. 27-34, 2001.

ARMI, Z.; TURKI, S.; TRABELSI, E.; MAIZ, N. B. First recorded proliferation of *Coolia monotis* (Meunier, 1919) in the North Lake of Tunis (Tunisia) correlation with environmental factors. *Environ Monit Assess* DOI 10.1007/s10661-009-0903z. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/xlu13256351rm72l/fulltext.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2009.

AVARIA, P. S. Implicancias del fenómeno de marea roja en la salud humana. **Revista Médica de Valparaíso**, v. 42, n. 1, p. 57-69, 1989.

AVELAR, J. C. L. **Manual de Miticultura**. 1.ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 1998. 164 p.

BASTOS, M. P.; MELLO, S.; SAAD, A.; MOSHEN, F.; COSTA, A. **Desenvolvimento e Apoio de Atividades de Maricultura Sustentáveis no Estado do Rio de Janeiro**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2., 2004, Belo Horizonte. Anais do Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. 2004.

BARATA, D. **Taxonomia e filogenia do gênero *Caulerpa* J.V. Lamour. (Bryopsidales, Chlorophyta)**. 2008. 200f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, 2008.

BARONE, R. Behavioural trait of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in Mediterranean rock pools: the spider's strategy. **Harmful Algae News**, nº. 33, 2007. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0015/001528/152834e.pdf>> Acesso em 20 jun. 2008.

BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; SANTO, M. L. P. E. **Processamento e industrialização de moluscos**. In: SEMINÁRIO WORKSHOP TECNOLOGIAS PARA APROVEITAMENTO INTEGRAL DO PESCADO, 2000, Campinas. ITAL, 2000, p. 38-84.

BLANCO, J.; ALVAREZ, G.; URIBE, E. Identification of pectenotoxins in plankton, filter feeders, and isolated cells of a *Dinophysis acuminata* with an atypical toxin profile, from Chile. **Toxicon**, v. 49, p. 710–716, 2007b.

BORGHETTI, A.; BORGHETTI, J. R. Espécies cultivadas na aquicultura brasileira. **Revista Brasileira de Agropecuária**, São Paulo, n. 11, p. 18-27, 2001.

BORGHETTI, N. R. B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R. **Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil no mundo**. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2003. 128p.

BOSCARDIN, N. R. A produção aquícola brasileira. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil**. Brasília, 2008. 276p.

BRASIL. Governo do Estado do Rio de Janeiro. **Decreto Nº. 9.802 de 12 de março de 1987.** Decreto sobre a criação da Área de Proteção Ambiental de Mangaratiba.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.

BRASIL. Secretaria de Estado da Agricultura e Desenvolvimento Rural. Portaria nº 021/02/SDA, de 01 de outubro de 2002. **Normas técnicas para a execução do Projeto de Sanidade Aquícola no Estado de Santa Catarina.** Disponível em: <<http://www.agricultura.sc.gov.br/internas/portaria.php?id=2>>. Acesso em: 26 jul. 2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA. Resolução n. 357 de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.** Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 16 nov. 2008.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Instrução Normativa Nº. 105, de 20 de julho de 2006. **Estabelece regras de ordenamento pesqueiro para a extração de mexilhões (*Perna perna*, LINNAEUS 1758) de estoques naturais e os procedimentos de instalações de empreendimentos de de malacocultura em águas de Domínio da União no Litoral Sudeste e Sul do Brasil.** Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/cepsul/legislacao.php?id_arq=430>. Acesso em: 20 set. 2008.

BRAVO, I.; FERNÁNDEZ, M.L.; RAMILO, I.; MARTINEZ, A. Toxin composition of the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* isolated from different locations along the Galician coast (NW Spain). **Toxicon**, v. 39, p.1537-1545, 2001.

BRESCIANINI C.; GRILLO C.; MELCHIORRE N.; BERTOLOTTO R.; FERRARI A.; VIVALDI, B.; ICARDI G.; GRAMACCIONI L.; FUNARI E.; SCARDALA S. Ostreopsis ovata algal blooms affecting human health in Genova, Italy, 2005 and 2006. **Eurosurveillance**, v. 11, n. 36, 2006. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3040>>. Acesso em: 20 mar. 2009.

CARMODY, E. P.; JAMES, K. J.; KELLY, S. S. Dinophysistoxin-2: The Predominant Diarrhetic Shellfish Toxin in Ireland. **Toxicon**, v. 34, n. 3, p. 351-359, 1996.

CASSANO, V. **Taxonomia e filogenia do complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta), com ênfase no estado do Rio de Janeiro, Brasil.** 2009. 328 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, 2009.

CENTRE OF EXCELLENCE FOR DINOPHYTE TAXONOMY – CEDITa. *Coolia*. Disponível em: <http://www.dinophyta.org/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=126>. Acesso em: 08 de junho de 2009.

CENTRE OF EXCELLENCE FOR DINOPHYTE TAXONOMY – CEDITb. *Ostreopsis*. Disponível em: <http://www.dinophyta.org/index.php?option=com_content&task=view&id=125&Itemid=52>. Acesso em: 08 de junho de 2009.

CHANG, F. H.; SHIMIZU, Y.; HAY, B.; MACKAY, G.; TASKER, R. Three recently recorded *Ostreopsis* spp. (Dinophyceae) in New Zealand: temporal and regional distribution in the upper North Island from 1995 to 1997. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 34, p. 29-39, 2000.

CIMINIELLO, P. A.; DELL'AVERSANO, C.; FATTORUSSO, E.; FORINO, M.; MAGNO, G. S.; TARTAGLIONE, L.; GRILLO, C.; MELCHIORREB, N. The Genoa 2005 Outbreak. Determination of putative palytoxin in Mediterranean *Ostreopsis ovata* by a new liquid chromatography tandem mass spectrometry method. **Anal. Chem.**, v. 78, p. 6153-6159, 2006

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Report of the working group meeting to assess the advice from the joint fao/who/ioc ad hoc expert consultation on biotoxins in bivalve molluscs.** 2006. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotoxin_report_en.pdf>. Acesso em: 9 mai. 2008.

COHEN-FERNANDEZ, E. J.; DEL CASTILLO, E. M.; UGARTE, I. H. S.; PEDROCHE, F. F. Contribution of external morphology in solving a species complex: The case of *Prorocentrum micans*, *Prorocentrum gracile* and *Prorocentrum sigmoides* (Dinoflagellata) from the Mexican Pacific Coast. **Phycological Research**, v. 54, p. 330–340, 2006.

CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPÉIA (CCE). **Diretriz do Conselho Europeu 91/492/EEC de 15 de Julho de 1991.**

CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPÉIA (CCE). **Diretriz do Conselho Europeu 97/61/EEC de 20 de Outubro de 1997.**

CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPÉIA (CCE). **Diretriz do Conselho Europeu 2002/99/EEC de 16 de Dezembro de 2002.**

CONTRERAS-GUZMAN, E. **Bioquímica de pescados e derivados.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409p.

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

CORRÊA, E. V.; SILVA, C. S.; NASCIMENTO, S. M. **Autoecologia de cepas de *Amphidinium* sp., *Coolia* cf. *monotis* e *Ostreopsis ovata* (DINOPHYTA) isoladas da**

costa leste Fluminense. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007, Caxambu. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil.

CRUZ-RIVERA, E.; VILLAREAL, T. A. Macroalgal palatability and the flux of ciguatera toxins through marine food webs. **Harmful Algae**, v. 5, p. 497-525, 2006.

DARANAS, A H.; NORTE, M. & FÉRNANDEZ, J. J. Toxic marine microalgae. **Toxicon**, v. 39, p. 1101-1132, 2001.

DE FOUW, J. C.; VAN EGMOND, H. P. & SPEIJERS, G. J. A. Ciguatera fish poisoning: a review. RIVM report 388802 021. **National Institute of Public Health and the Environment**, 2001. 66p.

DELGADO, G.; LECHUGA-DEVÉZE, C. H.; POPOWSKI, G.; TROCCOLI, L.; SALINAS, C. A. Epiphytic dinoflagellates associated with ciguatera in the northwestern coast of Cuba. **Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)**, v. 54, n. 2, p. 299-310, 2006

DE PAULA, J. C. **Química e morfologia de Espécies Brasileiras da tribo Dictyoteae (Phaeophyceae) e Avaliação dos Diterpenos como Marcadores taxonômicos.** 2007. 147 f.. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

DICKEY, R. W.; BOBZIN, S. C.; FAULKNER, D. J.; BENCHATH, F. A.; ANDRZEJWSKI, D. Identification of okadaic acid from a Caribbean dinoflagellate, *Prorocentrum concavum*. **Toxicon**, v. 28, p. 371-377, 1990.

DIEGUES, A. C. **Para uma aquicultura sustentável do Brasil.** São Paulo: NUPAUB – Núcleo de Apoio à Pesquisa sobre Populações Humanas e Áreas Úmidas Brasileiras – USP. Artigo n.3, 26 p., 2006.

DOLAPSAKIS, N. P.; KILPATRICK, M. W.; ECONOMOV-AMILLI, A.; TAFAS, T. Morphology and rDNA phylogeny of a Mediterranean *Coolia monotis* (Dinophyceae) strain from Greece. **Scientia Marina**, v.7, n.1, p. 67-76, 2006.

DONG, F. M. **The nutritional value of shellfish.** Published in part by Grant #NA76RG0119, Project A?C-5, from the National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) to Washington Sea Grant Program. University of Washington, 2001. p. 1-8.

DORTCH, Q. Harmful Algal Blooms. Encyclopedia of Life Sciences, 2001. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/user/accessdenied?ID=112618110&Code=4717&Framed=FALSE&MRWImpl=redesign2006&MRWAcronym=els&Page=http://mrw.interscience.wiley.com/emrw/9780470015902/els/article/a0002334/current/pdf?hd%3DAI%2CHarmful%26hd%3DAI%2CAI%26hd%3DAI%2CBlooms>>. Acesso em: 25 nov. 2008.

DURANDO, P.; ANSALDI, F.; ORESTE, P.; MOSCATELLI, P.; MARENSE, L.; GRILLO, C.; GASPARINI, R.; ICARDI, G. *Ostreopsis ovata* and human health: epidemiological and clinical features of respiratory syndrome outbreaks from a two-year syndromic surveillance, 2005-06, in north-west Italy. **Eurosurveillance**, v. 12, n. 23, 2007. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3212>> Acesso em: 20 mar. 2009.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. Statement of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on the Influence of processing on the levels of lipophilic marine biotoxins in bivalve molluscs. The EFSA Journal (2009) 1016, 1-10. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/contam_st_ej1016_processing_marine_BIOTOX_en,0.pdf?ssbinary=true> Acesso em: 04 abr. 2009.

FAUST M.A. 1990. Morphological details of six benthic species of *Prorocentrum* (Pyrrophyta) from a mangrove island, Twin Cays, Belize, including two new species. **Journal of Phycology**, v. 26, p. 548-558.

FAUST, M. A. Morphology of ciguatera-causing *Prorocentrum lima* (Pyrrophyta) from widely differing sites. **J. Phycol.**, v. 27, p. 642-648, 1991.

FAUST, M. A. Three new benthic species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) from Carrie Bow Cay, Belize: *P. sabulosum* sp. Nov., *P. sculptile* sp. Nov., and *P. arenarium* sp. nov. **Journal of Phycology**, v. 30, p. 755-763, 1994.

FAUST, M. A.; MOTON, S. L.; QUOD, J. P. Further SEM study of marine dinoflagellates: the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae). **Journal of Phycology**, v. 32, p. 1053-1065, 1996.

FAUST, M. A.; GULLEDGE, R. A. 2002. Identifying harmful marine dinoflagellates. Smithsonian Institution. **Contrib. U. S. Natl. Herb**, n. 42, p. 1-144, 2002.

FAUST, M. A. The dinoflagellates of Twin Cays: biodiversity, distribution, and vulnerability. In: RUETZLER, K. R.; FELLER, I. C.; MACINTYRE, I. G. (eds.). The Twin Cays Mangrove Ecosystem, Belize: Biodiversity, Geological History, and Two Decades of Change. **Atoll Research Bulletin**, v. 515, p. 1-20, 2004.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, M. T.; GARCÍA-RODRIGUEZ, A.; DÍAZ-TRELLES, R.; NOVELLI, A. Okadaic acid induces neuronal apoptosis: role of calcium and trophic factors. In: REGUERA, B.; BLANCO, J.; FERNÁNDEZ, M. L.; WYATT, T. (Org.). **Harmful Algae**. Vigo: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO and Xunta de Galicia Publishers, 1998. p. 577-580.

FERNÁNDEZ, M. L.; MÍGUEZ, A.; CACHO, E.; MARTÍNEZ, A.; DIOGÉNE, J.; YASUMOTO, T. Bioensaios con mamíferos y ensayos bioquímicos y celulares para la detección de ficotoxinas. In: SAR, E. A.; FERRARIO, M. E.; REGUERA, B. (Eds.). **Floraciones Algales Nocivas en Cono Sur Americano**. Vigo, Espanha: Instituto Español de Oceanografía, 2002. p. 79-107.

FERREIRA, J. F.; MAGALHÃES, A. R. M. Cultivo de mexilhões. In: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E.; BETHAME, E. (org.). **Aquicultura Experiências Brasileiras**. Florianópolis, 2003, p. 221-264.

FERREIRA, V. M. **Detecção de ácido okadaico produzido por *Dinophysis* spp. (Ehremberg, 1839), em mexilhões *Perna perna* (Linné, 1758), em situação de primavera e verão, nas ilhas Guaíba e Madeira, baía de Sepetiba, Rio de Janeiro**. 2004. 53 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

FERREIRA, V. M.; SILVA, P. F.; SILVA, P. P. O.; BORBA, H. R.; PEREIRA, M. M. D., BRASILEIRO, P. Influência da maré na composição da comunidade de dinoflagelados, outono/inverno de 2007, na ilha Guaíba, Mangaratiba, RJ. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FICOLOGIA, 12., 2008, Brasília. **Livro de Resumos XII Congresso Brasileiro de Ficologia**. Brasília: Sociedade Brasileira de Ficologia, 2008. Disponível em: <http://www.sbfic.org.br/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=29&Itemid=51> Acesso em: 23 nov. 2008a.

FERREIRA, V. M.; LOURENÇO, A. J.; MARINÉ, G. F.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. M.; PEREIRA, M. M. D.; BORBA, H. R. Dinoflagelados potencialmente tóxicos no litoral Sul Fluminense: estudos preliminares para avaliação de risco de toxinas lipofílicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FICOLOGIA, 12., 2008, Brasília. **Livro de Resumos XII Congresso Brasileiro de Ficologia**. Brasília: Sociedade Brasileira de Ficologia, 2008. p. 73-74. Disponível em: <http://www.sbfic.org.br/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=29&Itemid=51> Acesso em: 23 nov. 2008b.

FERREIRA, V. M. **Distribuição espacial, em microescala, e sazonal das microalgas potencialmente tóxicas *Dinophysis* spp. (Ehremberg 1839) na ilha Guaíba (município de Mangaratiba, RJ) e suas possíveis implicações no cultivo de moluscos bivalvos**. 2009. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

FERREIRA, V. M.; OLIVEIRA, G. M.; PEREIRA, M. M. D.; SILVA, P. P. O., BORBA, H. R.; LOURENÇO, A. J.; SILVA, P. F. Produção da ficotoxina diarreica ácido okadaico associada à microalga *Dinophysis acuminata* (Ehremberg 1839) na baía de Sepetiba, RJ e sua implicação para a saúde pública. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, no prelo.

FODEN, J.; PURDIE, D.A.; MORRIS, S; NASCIMENTO, S. Epiphytic abundance and toxicity of *Prorocentrum lima* populations in the Fleet Lagoon, UK. **Harmful Algae**, v. 4, n. 6, p. 1063-1074, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **Marine biotoxins**. Roma: FAO, 2004. 280 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **National Aquaculture Sector Overview**, 2005. Brasil. Disponível em:

<http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_brazil/en#tcNB0122>. Acesso em: 08 dez. 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2006**. Roma: FAO, 2007. 162p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: FAO, 2009. 196p.

FREMY, J. M.; BORDET, F. Evaluation of consequences on human health related to the occurrence of contaminants in seafood. **Revue Méd. Vét.** v. 153, n. 11, p. 735-740, 2002.

FUKUYO, Y. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 47, n. 8, p. 967-978, 1981.

GARCÍA, C.; GONZALEZ, V.; CORNEJO, C.; FLEMING, H. P.; LAGOS, N. First evidence of Dinophysistoxin-1 ester and carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked bivalves collected in the Patagonia fjords. **Toxicon**, v. 43, p. 121–131, 2004.

GARCIA-PRADO, J. A.; FREITAS, R. R. Pesca e aquicultura: ações de gestão multidisciplinar em busca de melhorias sócio-econômicas e ambientais. **Revista Brasileira Agroecologia**, v. 3, n. 1, p. 13-19, 2008.

GILBERT, P. M. Eutrophication and Harmful Algal Blooms: a complex global issue, examples from the Arabian seas including Kuwait Bay, and an introduction to the Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms (GEOHAB) Programme. **International Journal of Oceans and Oceanography**, v. 2, n. 1, p. 157-169, 2007.

GRANELI, E., B.; SUNDSTROM, L.; E.; ANDERSON, D. M. **Toxic Marine Phytoplankton**, New York: Elsevier, 1990. 554p.

GRANÉLI, E.; FERREIRA, C. E. L.; YASUMOTO, T.; RODRIGUEZ, E. G.; NEVES, M. H. B. Sea urchins poisoning by the benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata* on the Brazilian coast. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMFUL ALGAE, 10., 2002, Flórida. **Book of Abstracts of Xth International Conference on Harmful Algae**. Florida: Harmful Algae, 2002. p. 113.

GRANÉLI, E.; TURNER, J. T. Ecology of Harmful Algae. **Ecological Studies**, v. 189, p. 385, 2006.

GÓMEZ, F. A list of free-living dinoflagellate species in the world's oceans. **Acta Bot. Croat.**, v. 64, n. 1, p. 129–212, 2005.

HACKETT, J. D.; ANDESON, D. M.; ERDNER, D. L.; BHATTACHARYA, D. Dinoflagellates: a remarkable evolutionary experiment. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 10, p. 1523-1534, 2004.

HALLEGRAEFF G. M. A review of algal blooms and their apparent global increase. **Phycologia**, v. 32, n. 2, p. 79-99, 1993.

HALLEGRAEFF, G. M.; ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D. (Eds.), **Manual on Harmful Marine Microalgae**. IOC Manual and Guides, UNESCO, n. 33, p. 1-23, 1995.

HALLEGRAEFF G. M. Harmful algae blooms: a global overview. In: HALLEGRAEFF, G. M.; ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D. (Eds.), **Manual on Harmful Marine Microalgae**. IOC Manual and Guides, UNESCO, v. 11, p. 25-49, 2003.

HEIL, C. A.; CHASTON, K.; JONES, A.; BIRD, P.; LONGSTAFF, B.; COSTANZO, S.; DENNISON, W. C. Benthic microalgae in coral reef sediments of the southern Great Barrier Reef, Austrália. **Coral Reefs**, v. 23, p. 336-343, 2004.

HELM, M. M.; BOURNE, N.; LOVATELLI, A. **Cultivo de Bivalvos em Criadero** – Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca, n. 471. Roma: FAO, 2004. 177 p.

HOLMES, M. J.; LEWIS, R. J.; JONES, A.; HOY, A., W. Cooliatoxin, the first toxin from *Coolia monotis* (Dinophyceae). **Nat. Toxins**, v. 3, p. 355-362, 1995.

HURBUNGS, M. D.; JAYABALAN, N.; CHINEAH, V. **Seasonal distribution of potentially toxic benthic dinoflagellates in the lagoon of Trou Aux Biches, Mauritius**. AMAS 2001. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius. Disponível em: <<http://www.gov.mu/portal/sites/ncb/moa/farc/amas2001/pdf/s62.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2008.

HUSS, H.H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. FAO Documento Técnico sobre as Pescas, n. 334. Roma: FAO, 1997. 176p.

HUYNH, C.; PINELLI, E.; PUISSEUX-DAO, S.; BOULEK-BACHE, H.; PFOHL-LESZKOWICZ, A. Okadaic acid and adduct formation. In: REGUERA, B.; BLANCO, J.; FERNÁNDEZ, M. L.; WYATT, T. (Org.). **Harmful Algae**. Vigo: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO and Xunta de Galicia Publishers, 1998. p.

HU, T.; DEFREITAS, A. S. W.; DOYLE, J.; JACKSON, D.; MARR, J.; NIXON, E.; PLEASANCE, S.; QUILLIAM, M. A.; WALTER, J. A.; WRIGHT, J. L. C. New DSP toxin derivatives isolated from toxic mussels and the dinoflagellates, *Prorocentrum lima* and *Prorocentrum concavum*. In: SMAYDA, T. J.; SHIMIZU, Y. (Eds.) **Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea**. New York: Elsevier, 1993. p. 507-512.

IBRAHIM, A. M. M. Review of the impact of harmful algae blooms and toxins on the world economy and human health. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 33, n. 1, p. 210-223, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Instrução Normativa N° 105, 20 de Julho de 2006**. Brasília: Ibama, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Estatísticas da pesca 2006: Brasil grandes regiões e unidades da federação**. Brasília: Ibama, 2008. 174 p.

INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE – INEA. **Estudo técnico para criação da área de proteção ambiental do ecossistema marinho da Baía de Sepetiba**. Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br/downloads/0_BS_ESTUDO_DE_BASE.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2009.

JAMES, K. J.; CARMODY, E. P.; GILLMAN, M.; KELLY, S. S.; DRASCI, R., LUCENTINI, L.; GIANNETTI, L. Identification of a new diarrhoetic toxin in shellfish using liquid chromatography with fluorimetric and mass spectrometric detection. **Toxicon**, v.35, n. 6, p. 937-978, 1997.

JOLY, A. B. Flora marinha do litoral norte do estado de São Paulo e Regiões circunvizinhas. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, Série Botânica 21, v. 1, p. 294-393, 1965.

JOLY, A. B. Gêneros de algas marinhas da costa atlântica latino-americana. Editora da Universidade de São Paulo. 1967.

KERMAREC, F.; DOR, F.; ARMENGAUD, A.; CHARLET, F.; KANTIN, R.; SAUZADE, D.; DE HARO, L. Les risques sanitaires liés à la présence d’*Ostreopsis ovata* dans les eaux de baignade ou d’activités nautiques. **Environnement, Risques & Santé**, v. 7, n. 5, p. 357-363, 2008.

KYEWALYANGIA, M.; LUGOMEZA, C. **Existence of potentially harmful microalgae in coastal waters around Zanzibar: A need for a monitoring? programme**. [200-?]. Disponível em: <http://gridnairobi.unep.org/chm/EAFDocuments/Tanzania/Microalgae_in_coastal_waters.pdf>. Acesso em 10 fev. 2009.

LAGOS, N. Principales toxinas de origen fitoplanctónico: identificación y cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). In: SAR, E.A.; FERRARIO, M.E. y RAMÍREZ, B.R. (Eds.). **Floraciones Algales Nocivas en Cono Sur Americano**. Vigo, Espanha: Instituto Español de Oceanografía, 2002. p. 55-76.

LANDSBERG, J. H. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. In: Stickney, R.R. (Ed.). **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n. 2, . 113-390. 2002.

LEAL, J. H. **Bivalves**. Florida: Bailey-Matthews Shell Museum. 74p. Disponível em: <<http://www.shellmuseum.org/BivalvesLeal.pdf>>. Acesso em 20 nov. 2008.

LEAL, D. A. G; FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: metodologias de detecção e normas de controle. **Ver. Panam. Infectol.**, v.10, n.4, p. 48-57, 2008. Disponível em: <<http://www.revista-api.com/4%20edicao%202008/pdf/mat%2008.pdf>> Acesso em 20 de jan 2009.

LEE, J.S.; IGARASHI, T.; FRAGA, S.; DAHL, E.; HOVGAARD, P.; YASUMOTO, T. Determination of diarrhetic shellfish toxins in various dinoflagellate species. **J. Appl. Phycol.**, v. 1, p. 147-152, 1989.

LEITE, T. S.; PIETRAFFESA, J. P. Situação da (in)segurança alimentar no Brasil. **Revista da UFG**, v. 5, n. 1, 2003. Disponível em: <http://www.proec.ufg.br/revista_ufg/fome/inseguran%E7a.html>. Acesso em: 20 jan. 2009.

LEHANE, L. **Ciguatera Fish Poisoning: a review in a risk-assessment framework**. National Office of Animal and Plant Health, Agriculture, Fisheries and Forestry. Australia: Canberra, 1999. 82p.

LEHANE, L.; LEWIS, R.J. Review ciguatera: recent advances but the risk remains. **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, p. 91-125, 2000.

LENOCH, R. Saúde pública e os moluscos marinhos cultivados. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, n. 28 e 29, p. 65-70, 2003.

LENOIR, S.; TEN-HAGE, L.; TURQUET, J.; QUOD, J-P.; BERNARD, C.; HENNION, M-C. First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (dinophyceae) benthic bloom in southwestern indian ocean. **J. Phycol.**, v. 40, p. 1042-1051, 2004.

LEWIS, R. J. Ciguatera. South Pacific Commission Health Programme Staff. **SPC Information Circular**, v. 115, p. 1-17, 1991.

LEWIS, R. J. 1992. Ciguatoxins are potente ichthyotoxins. **Toxicon**, v. 30, nº. 2, p. 207-211, 1992.

LEWIS, R. J.; SELLIN, M. Recovery of ciguatoxins from fish flesh. **Toxicon**, v.31, nº. 10, p. 1333-1336, 1993.

LEWIS, R. J. The changing face of ciguatera. **Toxicon**, v. 39, p. 97-106, 2001.

LÓPEZ-FLORES, R.; GARCÉS, E.; BOIX, D.; BADOSA, A.; BRUCET, S.; MASÓ, M.; QUINTANA, D. Comparative composition and dynamics of harmful dinoflagellates in Mediterranean salt marshes and nearby external marine waters. **Harmful Algae**, v. 5, p. 637-648, 2006.

LOURENÇO, A. J. **Detecção do ácido ocadáico em cultivo de mexilhões, *Perna perna* (Liné, 1758), no outono de 2004, enseada de Maciéis, baía da Ilha Grande, Angra dos Reis - Rio de Janeiro**. 2004. 54 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

LOURENÇO, A. J.; FERREIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; ROSA, C. A. R.; DIREITO, G. M.; OLIVEIRA, G. M.; MIRANDA, A. S. Detecção de ácido okadaico em mexilhões *Perna*

perna (LINNÉ, 1758) cultivados em fazenda de maricultura na baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 14, n. 2, p. 79-82, 2007a.

LOURENÇO, A. J.; FERREIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; ROSA, C. A. R.; DIREITO, G. M.; OLIVEIRA, G. M. Evidência de depuração natural da toxina diarréica ácido okadaico em mexilhões *Perna perna* (LINNÉ, 1758) cultivados em fazenda de maricultura na baía de ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 14, n. 2, p. 91-94, 2007b.

MADIGAN, T. L.; LEE, K. G.; PADULA, D. J.; MCNABB, P.; POINTON, A. M. Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins in South Australian shellfish. **Harmful Algae**, v. 5, p. 119–123, 2006.

MAFRA JR, L. L.; FERNANDES, L. F.; PROENÇA, L. A. O. Harmful Algae and Toxins in Paranaguá Bay, Brazil: Bases for Monitoring. **Brazilian Journal Of Oceanography**, v. 54, n. 1/2, p.107-121, 2006.

MAK, K. C. Y.; YU, H.; CHOI, M.C.; SHEN, X. Y.; LAM, M. H. W.; MARTIN, M.; WU, R. S. S.; WONG, P. S.; RICHARDSON, B. J.; LAM, P. K. S. Okadaic acid, a causative toxin of diarrhetic shellfish poisoning, in green-lipped mussels *Perna viridis* from Hong Kong fish culture zones: Method development and monitoring. **Marine Pollution Bulletin**, v.51, p. 1010–1017, 2005.

MANGIALAJO, L.; BERTOLLOTO, R.; CATTANEO-VIETTI, R.; CHIANTORE, M.; GRILLO, C.; LEMEE, R.; MELCHIORRE, N.; MORETTO, P.; POVERO, P.; RUGGIERI, N. The toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*: quantification of proliferation along the coastline of Genoa, Italy. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, p. 1209-1214, 2008.

MARANDA, L.; CORWIN, S.; DOVER, S.; MORTON, S. L. *Prorocentrum lima* (Dinophyceae) in northeastern USA coastal waters II: Toxin load in the epibiota and in shellfish. **Harmful Algae**, v. 6, p. 632–641, 2007.

MARINÉ, G. F. **Detecção de ácido okadaico em cultivo de mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) e identificação do fitoplâncton potencialmente produtor, na enseada de Maciéis, Angra dos Reis, RJ.** 2007. 50f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

MATIAS, G. W. Maricultura e a problemática das eflorescências de algas marinhas nocivas. **Revista Biotecnologia e Desenvolvimento**, nº. 8, p. 16-17, 1999.

MASÓ M.; GARCÉS, E. Harmful microalgae blooms (HAB) problematic and conditions that induce them. **Marine Pollution Bulletin**, v. 53, p. 620-630, 2006.

MELO, S. C. R. P. Aspectos da malacocultura no estado do Rio de Janeiro: avanços e entraves. In: XXI ENCONTRO BRASILEIRO DE MALACOLOGIA E III SIMPÓSIO DE MALACOCULTURA, 2009, Rio de Janeiro. **XXI Encontro de Brasileiro de Malacologia**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Malacologia, 2009.

MENEZES, L. F. T.; PEIXOTO, P. A. L.; DE ARAÚJO, D. S. D. (eds.). **História Natural da Marambaia**. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2005. 288 p.

MÉNDEZ, S.; BRAZEIRO, A.; FERRARI, G.; MEDINA, D.; INOCENTE, G. Mareas rojas em Uruguay. Programa de control y actualización de resultados. **Informe Técnico INAPE**, n. 46, 1993.

MOESTRUP, O. (Ed.). **IOC Taxonomic Reference List of Toxic Algae**. Copenhagen: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 2004. Disponível em: <<http://www.bi.ku.dk/ioc/downloads/IOC.pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2009.

MOHAMMAD-NOOR, N.; MOESTRUP, O.; DAUGBJERG, N. Light, electron microscopy and DNA sequences of the dinoflagellate *Prorocentrum concavum* (syn. *P. arabianum*) with special emphasis on the periflagellar area. **Phycologia**, v. 46, p. 549–564, 2007. DOI: 10.2216/06-94.1.

MONTI, M.; MINOCCI, M.; BERAN, A.; IVESA, L. First record of *Osteopsis* cfr. *O. macoalgae* in the Northern Adriatic Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, p. 598–601, 2007.

MOROÑO, A.; ARÉVALO, F.; FERNANDEZ, M. L.; MANEIRO, J.; PAZOS, Y.; SALGADO, C.; BLANCO, J. Accumulation and transformation of DSP toxins in mussels *Mytilus galloprovincialis* during a toxic episode caused by *Dinophysis acuminata*. **Aquatic Toxicology**, v. 62, p. 269–280, 2003.

MORTON, S. L.; PETITPAIN, D. L.; BUSMAN, M.; MOELLER, P. D. R. Production of okadaic acid and dinophysis toxins by different species of *Prorocentrum*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF HARMFUL ALGAL BLOOMS, 9., 2000, Hobart. **Book of Abstracts of IXth International Conference of Harmful Algal Blooms**. Hobart: Harmful Algae, 2000. p. 183.

MURAKAMI, Y.; OSHIMA, Y.; YASUMOTO, T. Identification of okadaic acid as a toxic component of a marine dinoflagellate *Prorocentrum lima*. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.**, v. 48, p. 69–72, 1982.

MURATA, M.; LEGRAND, A. M.; ISHIBASHI, Y.; FUKUI, M.; YASUMOTO, T. Structures and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus* and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 112, p. 4380–4386, 1993.

NAKAJIMA, I.; OSHIMA, Y.; YASUMOTO, T. Toxicity of benthic dinoflagellates in Okinawa. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.**, v. 47, p. 1029–1033, 1981.

NASCIMENTO, S. M. Epiphytic dinoflagellates from the Brazilian coastline. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMFUL ALGAE, 12., 2006, Copenhagen.

Book of Abstracts of XIIth International Conference on Harmful Algae. Copenhagen: Harmful Algae, 2006. p. 248.

NASCIMENTO, S. M.; MONTEIRO, P. O.; CORRÊA, E. V.; FERREIRA, C. E., RODRIGUEZ, E. G. Abundância de *Prorocentrum lima* e *Ostreopsis ovata* (Dinophyta) na costa leste do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO LATINO- AMERICANO DE CIÊNCIAS DO MAR, 12., 2007, Florianópolis. **XII Congresso Latino- Americano de Ciências do Mar.** 2007. 1 CD-ROM.

NASCIMENTO, S. M.; MONTEIRO, P. O.; CORRÊA, E. V.; FERREIRA, C. E., RODRIGUEZ, E. G. *Ostreopsis ovata* blooms on Rio de Janeiro coastline, Brazilian southeast. **Harmful Algae News**, v. 37, p. 1-4, 2008.

ODEBRECHT, C.; AZEVEDO, S. M. F. Q.; GARCIA, V. M. T.; HUSZAR, V.; MAGALHAES, V. F.; MENEZES, M.; PROENÇA, L. A. O.; RORIG, L. R.; TENENBAUM, D. R.; VILLAC, C.; YUNES, J. Floraciones de microalgas nocivas en Brasil: estado del arte y proyectos en curso. IN: SAR, E.; FERRARIO, M. E.; REGUERA, B. **Floraciones algales nocivas en el cono sur americano.** Instituto Español de Oceanografía, 2002, p. 217-233.

OLIVEIRA, G. M. **Detecção do ácido okadaico por cromatografia líquida de alta eficiência em mariscos (*Perna perna*) capturados na baía de Sepetiba.** 2001. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

OLIVEIRA, G. M.; SILVA, P. P. O.; ROSA, C. A. R.; BASTOS, R. A.; FERREIRA, V. M. RODRIGUES, E. S. Detección de ácido okadaico por cromatografia líquida de alta eficiência em mariscos (*Perna perna*) capturados en la bahía de Sepetiba. **Revista Alimentaria**, v. 366, p. 56-61, 2005.

OLIVEIRA, G. M.; SILVA, P. P. O.; FERREIRA, V. M. Avaliação de risco: estudos preliminares para ficotoxinas de origem bentônica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FICOLOGIA, 12., 2008, Brasília. **XII Congresso Brasileiro de Ficologia.** Brasília: Sociedade Brasileira de Ficologia, 2008. Disponível em: <http://www.sbfic.org.br/publicacoes/CBFIC2008/pdf/AVALIACAODERISCO_0185-353.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2009.

ONUMA, Y.; SATAKE, M.; UKENA, T.; ROUX, J.; CHANTEAU, S.; RASOLOFONIRINA, N.; RATSIMALOTO, M.; NAOKI, H.; YASUMOTO, T. Identification of putative palytoxin as the cause of clupeotoxism. **Toxicon**, v. 37, p. 55-65, 1999.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. A.; CHAMMAS, M. A. Potencial para o desenvolvimento da aqüicultura no brasil. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. (eds.). **Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer.** Brasília, 2008. 276 p.

PAIXÃO, A. C. Ilha da Restinga da Marambaia vista da pombeba. Disponível em: <<http://www.panoramio.com/photo/2944399>>. Acesso em: 25 jun. 2008.

PARSONS, M. L.; PRESKITT, L. B. A survey of epiphytic dinoflagellates from the coastal waters of the island of Hawai'i. **Harmful Algae**, v. 6, n. 5, p. 658-669, 2007.

PAVELA-VRANCIC, M.; MESTROVIC, V.; MARASOVIC, I.; GILLMAN, M.; FUREY, A.; JAMES, K. J. DSP Toxin Profile in the Coastal Waters of the Central Adriatic Sea. **Toxicon**, v.40, p. 1601–1607, 2002.

PENNA, A.; VILA, M.; FRAGA, S.; GIACOBBE, M. G.; ANDREONI, F.; RIOBO, P.; VERNESI, C. Characterization of ostreopsis and coolia (dinophyceae) isolates in the western mediterranean sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8s rdna sequences1. **J. Phycol.**, v. 41, p. 212–225, 2005.

PEREIRA, L. G. C. **Pesca e Aqüicultura no Brasil**. Câmara dos Deputados Consultoria Legislativa, Anexo III, Brasília-DF, 2007. 15p. Disponível em: <http://apache.camara.gov.br/portal/arquivos/Camara/internet/publicacoes/estnottec/tema2/2007_7982_Juliao%20Amin_067.pdf> Acesso em: 25 nov. 2008.

PEREIRA, M. M. D. **Avaliação bacteriológica da água do mar e dos mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) cultivados na Ilha Guaíba, Baía de Sepetiba**, RJ. 2008. 78 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

PROENÇA, L. A.; SCHMITT, F.; COSTA, T.; RÖRIG, L. Just a diarrhea? Evidence of diarrhetic shellfish poisoning in Santa Catarina, Brazil. **Ciência e Cultura**, v.50, n. 6, p. 458-462. 1998.

PROENÇA, L. A.; LAGOS, N.; RÖRIG, L.; SILVA, M.; GUIMARÃES, S. Occurrence of paralytic shellfish toxins – PSP in southern Brazilian waters. **Ciência e Cultura**, v. 51, n. 1, p. 16-21, 1999.

PROENÇA, L. A. O. **Avaliação do Impacto de Florações Nocivas no Brasil**. In: ENCONTRO DO GRUPO DE TRABALHO REGIONAL SOBRE FLORAÇÕES DE ALGAS NOCIVAS NA AMÉRICA DO SUL, 4., 2000, Rio Grande. **Anais do IV Encontro do Grupo de Trabalho Regional sobre Florações de Algas Nocivas na América do Sul**. Rio Grande: IOC, 2000.

PROENÇA, L. A. O.; VILLAC, M. C. **Taller Regional de Planificación Científica sobre Floraciones de Algas Nocivas en Sudamérica**. FANSA/COI/UNESCO. Informe Nacional Brasil. Guayaquil, Equador, 2003.

PROENÇA, L. A. O. Algal Blooms in Coastal Zones: Examples of Harmful Impacts From the Brazilian Coast. **Journal of Coastal Research**, Special Issue 39, p. 76-78, 2006.

PROENÇA, L. A. O.; SCHRAMM, M. A.; TAMANAHA, M. S.; ALVES, T. P. Diarrhoetic shellfish poisoning (DSP) outbreak in Subtropical Southwest Atlantic. **Harmful Algae News**, v. 33, p. 19-20, 2007.

QUALFOOD. **Influência do processamento nos níveis de biotoxinas no marisco**. Bases de dados de qualidade e segurança alimentar. 2003. Disponível em: <<http://qualfood.biostrument.com/?option=noticia&task=show&id=10879>> Acessado em 15 de abril de 2009.

QUILLIAM, M. A.; WRIGHT, J. L. C. Methods for Diarrhetic Shellfish Poisons. In: HALLEGRAEFF, G. M., ANDERSON, D. M., CEMBELLA, A. D. (Ed.). **Manual on Harmful Marine Microalgae**. IOC Manuals and Guides n. 33. Denmark: UNESCO, 1995. p. 95-111.

QUOD, J. P. *Ostreopsis mascarenensis* sp. nov. (Dinophyceae), a new toxic dinoflagellate from coral reefs in the South West Indian Ocean. **Crypt. Algol.**, v.15, p. 243-252, 1994.

QUOD, J. P.; TURQUET, J.; DIOGENE, G.; FESSARD, V. Screening of extracts of dinoflagellates from coral reefs (Reunion Island, SW Indian Ocean), and their biological activities. In: LASSUS, P.; ARZUL, G.; ERARD-LE DENN, E.; GENTIEN, P.; MARCAILLOU-LE BAUT, C. (Eds.) **Harmful Marine Algal Blooms**. Paris: Lavoisier, 1995. p. 815-820.

REGUERA, B. Establecimiento de un programa de seguimiento de microalgas tóxicas. In: SAR, E. A.; FERRARIO, M. E.; REGUERA, B. (Ed.). **Floraciones algales nocivas en el Cone Sur Americano**. Vigo: Instituto Español de Oceanografía, 2002. p. 21-54.

RHODES, L. L.; THOMAS, A. E. *Coolia monotis* (Dinophyceae): a toxic epiphytic microalgal species found in New Zealand. N. Z. **J. Mar. Freshw. Res.**, v. 31, p. 139-141, 1997.

SANTOS, C. A. M. L. **A qualidade do pescado e a segurança dos alimentos**. In: II SIMPÓSIO DE CONTROLE DE PESCADO. 2006. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/qualidade_pescado.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2007.

SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (SEMA) (1998) **Uma Avaliação da Qualidade das Águas Costeiras do Estado do Rio de Janeiro**. Projeto Planagua SEMA/GTZ de cooperação técnica Brasil-Alemanha, Fundação Estudos do Mar, Rio de Janeiro, 194 p.

SCHMITT, F.; PROENÇA, L. A. Ocorrência de Dinoflagelados do Gênero *Dinophysis* (ENRENBURG, 1839) na Enseada de Cabeçadas (Verão e Outono de 1999). **Notas Técnicas Facimar**, v. 4, p. 49-59, 2000.

SCOTT, P. C. Considerações sobre o uso da Baía de Sepetiba, RJ para maricultura apoiadas num Sistema de Informação Geográfica (SIG). Relatório Preliminar nº. 98.001, série 007V-2. Rio de Janeiro: Universidade Santa Úrsula, 1998. 50p.

SECRETARIA ESPECIAL DE AQUICULTURA E PESCA (SEAP/PR), 2005. **Programa Nacional de Desenvolvimento da Maricultura em Águas da União**. SEAP/PR. Brasília, 48p.

SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A.; PAN, B. S. Composición nutritiva de los principales grupos de animales marinos utilizados como alimento. In: SIKORSKI, Z. E. **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación**. Zaragoza: Acribia, 1994, p. 39-72.

SILVA, C. R.; LEMIESZEC, M. B.; FERREIRA, J. F.; RIBEIRO, R. H. C.; CREPPY, E.; MATIAS, W. G. Genotoxicidade do Ácido Okadaico. **Biotecnologia e Desenvolvimento**, n. 20, p. 56-59, 2001.

SILVA, L. M.; ÁVILA, T.; ODEBRECHT, C.; MATTHIENSEN. *Ostreopsis ovata* associado a mancha de *Trichodesmium* (CIANOACTÉRIA) próximo a ilha do Arvoredo. In: CONGRESSO DE FICOLOGIA, 11., 2006, Itajaí. **Anais do XI Congresso de Ficologia e Simpósio Latino-Americano sobre Algas Nocivas**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2008. p. 67.

SOUZA, A. T. S. Certificação da qualidade de pescados. São Paulo, **Biológico**, v. 65, n.1/2, p.11-13, 2003.

SOUZA, J. C. R.; BARROS, G. C.; SILVA, P. P. O.; FERREIRA, V. M.; OLIVEIRA, G. M. Primeira detecção de ácido okadaico em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) coletadas no canal de Santa Cruz, Itapissuma, Pernambuco. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 149, p. 17-21, 2007.

STEIDINGER, K. A. Collection, enumeration and identification of free-living marine dinoflagellate. In: TAYLOR; D. L.; SELIGER, H. H. (Eds.). **Toxic Dinoflagellate Blooms**. New York: Elsevier, 1979. p. 435-442.

STEIDINGER, K. A. A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology. **Prog. Phycol. Res.**, v. 2, p. 147-188, 1983.

STEIDINGER, K. A.; TANGEN, K. Dinoflagellates. In: TOMAS, C. R. (Ed.). **Identifying Marine Phytoplankton**. Saint Petersburg: Florida Marine Research Institute, 1997. 858p.

SUEOKA, E.; FUJIKI, H. Carcinogenesis of okadaic acid class tumor Promoters derived from marine natural products. In: REGUERA, B.; BLANCO, J.; FERNÁNDEZ, M. L.; WYATT, T. (Org.). **Harmful Algae**. Vigo: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO and Xunta de Galicia Publishers, 1998. p. 573-576.

SUZUKI, T.; IGARASHI, T.; ICHIMI, K.; WATAI, M.; SUZUKI, M.; OGISO, E.; YASUMOTO, T. Kinetics of diarrhetic shellfish poisoning toxins, okadaic acid, dinophysistoxin-1, pectenotoxin-6 and yessotoxin in scallops *Patinopecten yessoensis*. **Fisheries Science**, v. 71, p. 948-95, 2005.

SZÈCHY, M. T. M. **Feofíceas do litoral norte do Estado do Rio de Janeiro**. 1986. 366 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1986.

TACHIBANA, K., SCHEUER, P. J., TSUKITANI, Y., KIKUCHI, H., ENGEN, D. V., CLARDY, J., GOPICHAND, Y. & SCHIMITZ, F. J. Okadaic acid a citotoxic polyether from two marine sponges of the genus *Halichondria*. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 103, p. 2469-2470, 1981.

TAPIA-HEREDIA, A.; ARREDONDO-VEGA, B. O.; NUÑEZ-VÁZQUEZ, T.; YASUMOTO, T.; YASUDA, M.; OCHOA, J. L. Isolation of *Prorocentrum lima* (Syn. *Exuviaella lima*) and diarrhetic shellfish poisoning (DSP) risk assessment in the Gulf of California, Mexico. **Toxicon**, v. 40, p. 1121-1127, 2002.

TEIXEIRA, V. L.; KELECOM, A.; GOTTLIEB, O. R. Produtos naturais de algas marinhas. **Química Nova**, v. 14, p. 83-90, 1991.

TEN-HAGE, L., DELAUNAY, N.; PICHON, V.; COUTE, A., SIMONE PUISEUX-DAO, S.; TURQUET, J. Okadaic acid production from the marine benthic dinoflagellate *Prorocentrum arenarium* Faust (Dinophyceae) isolated from Europa Island coral reef ecosystem (SW Indian Ocean). **Toxicon**, v. 38, p. 1043-1054, 2000.

TINDALL, D. R.; DICKEY, R. D.; CARLSON, R. D.; MOREY-GAINES, G. Ciguatogenic dinoflagellates from the Caribbean Sea. In: RAGELIS, E. P. (Ed.). **Seafood Toxins**. Washington: Am. Chem. Soc., 1984. p. 225-240.

TINDALL, D. R.; MILLER, D. M.; BOMBER, J. W. Culture and toxicity of dinoflagellates from ciguatera endemic regions of the world. **Toxicon**, v. 27, p. 83 (abstract), 1989.

TINDALL, D. R.; MILLER, D. M.; TINDALL, P. M. Toxicity of *Ostreopsis lenticularis* from the British and United States Virgin Islands. In: GRANALI, E.; SUNDSTROM, B.; EDLER, L.; ANDERSON, D. M. (eds.), **Toxic Marine Phytoplankton**, Elsevier, New York, p. 424-429, 1990.

TORGERSEN, T.; AASEN, J.; AUNE, T. Diarrhetic shellfish poisoning by okadaic acid esters from Brown crabs (*Cancer pagurus*) in Norway. **Toxicon**, v. 46, p. 572-578, 2005.

TORIGOE, K.; MURATA, M.; YASUMOTO, T. Prorocentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 110, p. 7876-7877, 1988.

TOSTESON, T. R.; BALLANTINE, D. L.; TOSTESON, C. G.; BARDALES, A.; DURST, H. D.; HIGERD, B. Comparative toxicity of *Gambierdiscus toxicus*, *Ostreopsis* cf. *lenticularis*, and associated microflora. **Marine Fisheries Review**, v. 48, n. 4, p. 57-59, 1986.

TOSTESON, T. R.; BALLANTINE, D. L.; TOSTESON, C. G.; BARDALES, A.; DURST, H. D.; HIGERD, B. Associated Bacterial Flora, Growth, and Toxicity of Cultured Benthic

Dinoflagellates *Ostreopsis lenticularis* and *Gambierdiscus toxicus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 137-141, 1989.

TOTTI, C.; PENNA, A. Bloom of *Ostreopsis ovata* on the Conero Rivera (NW Adriatic Sea). **Harmful Algae News**, v. 33, p. 12-13, 2007.

TOYOFUKU, H. Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins (research report). **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, p. 1735–1745, 2006.

USAMI, N.; SATATAKE, M.; ISHIDA, S.; INOUE, A.; KAN, Y.; YASUMOTO, T. Palytoxin analogs from the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 117, p. 5389-5390, 1995.

UTERMÖHL, H. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton methodik. Mitt. Int. Ver. Limnol. v. 9, p.1-38, 1958.

VALE, P.; SAMPAYO, M. A. M. Esterification of DSP Toxins by Portuguese Bivalves from the Northwest Coast Determined by LC-MS – a Widespread Phenomenon. **Toxicon**, v. 40, p. 33-42, 2002a.

VALE, P.; SAMPAYO, M. A. M. First confirmation of human diarrhoeic poisonings of okadaic acid esters after ingestion of razor clam (*Solen marginatus*) and green crabs (*Carcinus maenas*) in Aveiro lagoon, Portugal and detection of okadaic acid esters in phytoplankton. **Toxicon**, v. 40, p. 989-996, 2002b.

VAN DOLAH, F. M. **Excerpt From: Diversity of marine and freshwater algal toxins.** NOAA National Ocean Service. Center for Costal Environmental Health and Biomolecular Research. 2002.

VERSHININ, A.; MORUCHKOV, A.; MORTON, S. L.; LEIGHFIELD, T. A.; QUILLIAM, M. A.; RAMSDELL, J. S. Phytoplankton composition of the Kandalaksha Gulf, Russian White Sea: *Dinophysis* and lipophilic toxins in the blue mussel (*Mytilus edulis*). **Harmful Algae**, v. 5, p. 558–564, 2006.

VIANNA, S. C. **O Microfitoplâncton da Baía de Sepetiba: composição e densidade relativa na primavera de 2001 e outono de 2002.** 2003. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Bacharelado em Biologia Marinha). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

VILA, M.; GARCÉS, E.; MASÓ, M. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 26, p. 51-60, 2001.

VILLAC, M. C.; FERNADES, F. C.; JABLONSKI, S.; LEAL NETO, A. C.; COUTINHO, B. H. (Ed.). Biota da área de influência do Porto de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil: levantamento de dados pretéritos. Programa GloBallast. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004.

WYNNE, M.J. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: first revision. **Nova Hedwigia**, v. 129, n. 1, p. 1-152, 2005.

YASUMOTO, T.; NAKAJIMA, I.; BAGNIS, R.; ADACHI, R. Finding of a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish**, v. 43, p. 1021-26, 1977.

YASUMOTO, T., OSHIMA, Y., MURAKAMI, Y., NAKAJIMA, I., BAGNIS, R.; FUKUYO, Y. Toxicity of dinoflagellates found in Coral Reef. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 46, n. 3, p. 327-331, 1980.

YASUMOTO, T.; SEINO, N.; MURAKAMI, Y.; MURATA, M. Toxins produced by benthic dinoflagellates. **Biol. Bull.**, v. 172, p. 128-131, 1987.

YASUMOTO, T.; SATAKE, M. Chemistry, etiology and determination methods of ciguatera toxins. **J. Toxicol.**, v. 15, p. 91-107, 1996.