

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**TESE**

**Distribuição Espacial, em Microescala, e Sazonal das Microalgas  
Potencialmente Toxígenas *Dinophysis* spp. (Ehrenberg 1839) na ilha  
Guaíba (Mangaratiba, RJ) e suas Possíveis Implicações no Cultivo de  
Moluscos Bivalvos**

**Vanessa de Magalhães Ferreira**

**2009**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

**Distribuição Espacial, em microescala, e Sazonal das Microalgas  
Potencialmente Toxígenas *Dinophysis* spp. (Ehrenberg 1839) na ilha  
Guaíba (Mangaratiba, RJ) e suas Possíveis Implicações no Cultivo de  
Moluscos Bivalvos**

Oceanógrafa Vanessa de Magalhães Ferreira, MSc.

*Sob a Orientação:*

**Prof. Dr. Hélcio Resende Borba**

*e Co-orientação:*

**Prof. Dr. Pedro Paulo de Oliveira Silva**

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção de grau de **Doutora em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Sanidade Animal.

Seropédica, 04 Março de 2009

639.429815

3

F383d

T

Ferreira, Vanessa de Magalhães,  
1973-

Distribuição espacial, em  
microescala, e sazonal das  
microalgas potencialmente toxígenas  
*Dinophysis* ssp. (Ehremberg 1839) na  
ilha Guaíba (Mangaratiba, RJ) e suas  
possíveis implicações no cultivo de  
Moluscos Bivalvos / Vanessa de  
Magalhães Ferreira - 2009.

107 f. : il.

Orientador: Hércio Resende  
Borba.

Tese (doutorado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro,  
Curso de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias.

Bibliografia: f. 72-92

1. Mexilhão - criação -  
Mangaratiba (RJ) - Teses. 2.  
Bivalve (molusco) - Criação -  
Mangaratiba (RJ) - Teses. 3.  
Toxinas marinhas - Mangaratiba (RJ)  
- Teses. I. Borba, Hércio Resende,  
1954-. II. Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. Curso de  
Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias. III. Título.

Bibliotecário: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**VANESSA DE MAGALHÃES FERREIRA**

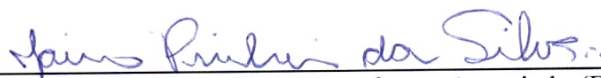
Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciências, no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Sanidade Animal.

Tese aprovada em: 04 de Março de 2009



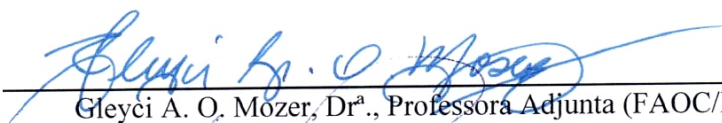
---

Hélcio Resende Borba, Dr., Professor Associado (DBA/IB/UFRRJ)  
Orientador



---

Jairo Pinheiro da Silva, Dr., Professor Associado (DBA/IB/UFRRJ)



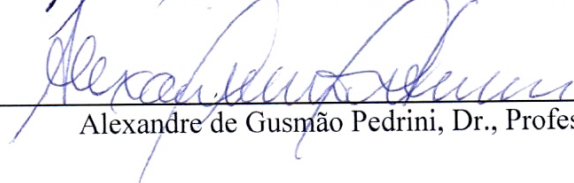
---

Gleyci A. O. Mozer, Dr<sup>a</sup>, Professora Adjunta (FAOC/IGEO/UERJ)



---

Marcos Bastos Pereira, Dr., Professor Adjunto (FAOC/IGEO/UERJ)



---

Alexandre de Gusmão Pedrini, Dr., Professor Adjunto (IB/UERJ)

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao **Amor**.  
Sentimento que me move e inspira.  
E que sinto por minha família, meus  
amigos, pelo mar, pela minha  
profissão, pela Vida...

## AGRADECIMENTO

**Primeiramente à energia suprema que move o universo**, que a humanidade chama Deus (e eu prefiro chamar de Natureza...), cuja Presença sinto no movimento dos astros e das águas do mar, fonte de minha vocação e inspiração. Agradeço pela minha vida, pela força frente à adversidade, pelos anjos que põe no meu caminho (disfarçados de amigos) e pela alegria de viver, sempre!

**Minha família...** Agradeço a meus pais pela honra de terem me aceito como filha e feito de mim o que sou: raízes fortes e profundas, tendo ao mesmo tempo asas que me possibilitam alçar vôo em busca do meu horizonte. Amo vocês... Meus avós (*in memoriam*), minha madrinha, meus tios e tias, primos e primas, minha pequena Nicolle. Obrigada por encher minha vida de alegria e esperança...

**Aos meus queridos orientadores**, Dr. Hécio Resende Borba (DBA/IB/UFRRJ) e Dr. Pedro Paulo de Oliveira Silva (DTA/IT/UFRRJ). Vocês têm sido como farol para um navegante: indicam com segurança o caminho, me permitindo trilhá-lo com liberdade. Um referencial de competência, seriedade e firmeza, *más sin perder la ternura jamás...*

**Aos meus mestres...** Todos que contribuíram na minha formação, desde minha primeira professora no jardim (a querida tia Inês); minha professora de filosofia (Ângela Alhanati que me ensinou a questionar); professores da Oceanografia (em especial meu primeiro orientador Marcos Bastos, que me apresentou à maricultura); professores da Microbiologia Veterinária (em especial Carlos Alberto da Rocha Rosa “Shalako” e Glória Direito) e das Ciências Veterinárias (Akiko Santos, Ana Cristina S. dos Santos e Gonzalo Efraim Moya, por ensinarem e viverem o que realmente é docência e pesquisa); aos professores que me iniciaram no fantástico universo fitoplanctônico (Alexandre de Gusmão Pedrini, Denise Tenenbaum e Sérgio Lourenço). Vocês enriqueceram minha vida e me auxiliaram a obter a única coisa que não pode ser tirada de uma pessoa: o saber!

**Em especial à pesquisadora Beatriz Reguera** (Centro Oceanográfico de Vigo, Espanha) pela imensurável oportunidade a mim proporcionada de conhecer um centro de referência internacional de pesquisa em microalgas nocivas. E, por amavelmente ter-me recebido e generosamente ter compartilhado seu conhecimento. A experiência foi um divisor de águas em minha vida, tanto profissional quanto pessoalmente.

**À minha ToxFamília...** Pelo companheirismo e afeto, ajuda, boas idéias e conselhos, risadas e lágrimas... E pelos puxões de orelha também! Gesilene, minha irmã; Aderbson, meu porto seguro; Milena, minha caçulinha; Luizão, nosso anjo da guarda; Robertinho, nosso piloto e oceanógrafo honorário, e também Ana Lúcia, Elizete, Tatiani, Patrícia, Helena, Bruno, Geisi... Cardume: Eu não seria nada sem vocês!

**À Prefeitura Municipal de Mangaratiba**, na pessoa do Secretário Giovanni Kede pela parceria fundamental que assegurou a realização desta tese. E também agradeço à **Associação de Maricultores de Mangaratiba**, representados por Marquinhos e Maria, Sr. Expedito e Guacyra pela cessão do long-line, dos animais, e do inestimável conhecimento de mar. Em especial agradeço ao nosso braço-forte-no-leme Lúcio, sempre companheiro e pronto a nos ajudar.

**Ao meu sempre presente irmão**, Luiz Eduardo, por sua amizade incondicional ao longo de todos esses anos... Por me ouvir, pelas discussões oceanográficas e pela análise estatística dos dados da tese. Amigos até (e sobretudo) embaixo d'água!

**À CAPES** pela concessão da bolsa.

**À Comissão Oceanográfica Intergovernamental** pelo patrocínio da minha viagem para Vigo.

## BIOGRAFIA

“Quero, um dia, dizer às pessoas que nada foi em vão...  
Que o amor existe, que vale a pena se doar às amizades e às pessoas, que a vida é bela sim e  
que eu sempre dei o melhor de mim... e que valeu a pena.”

Mário Quintana

Norteada por esse pensamento sou a resultante de um processo criativo conjunto, iniciado em 28 de agosto de 1973, por Heleno Nunes Ferreira e Zelinda de Magalhães Ferreira. Ao longo da minha caminhada tenho recebido a colaboração de amigos, mestres, e até mesmos de contratempos, para a construção de quem eu sou. Concluí o ensino fundamental na Escola Alberto Santos Dumont em Santa Cruz, RJ. Aos nove anos ocorreu uma mudança que seria fundamental para o afloramento da minha vocação: minha família mudou-se para Mambucaba, município de Paraty. Nascia aí minha paixão pelo mar... Nesse mesmo município terminei o ensino fundamental na Escola Estadual Almirante Álvaro Alberto e posteriormente o médio no Colégio Estadual Roberto Montenegro fazendo o curso de Formação de Professores. Formei-me bacharel em Oceanografia em 2000 pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro, sendo orientada pelo Professor Marcos Bastos. Minha monografia foi sobre o desenvolvimento do mexilhão *Perna perna* na região da Ilha Grande (Angra dos Reis, RJ). Fui bolsista de extensão na UERJ trabalhando com maricultura e educação ambiental. Iniciei minha história na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no final de 2000 como estagiária responsável pela extração da glândula digestiva do mexilhão para o trabalho da dissertação de Gesilene Mendonça de Oliveira. Que consistia da detecção da ficotoxina diarréica ácido okadaico em mexilhões da baía de Sepetiba (RJ). Dediquei-me durante um ano e o trabalho rendeu-me um convite do Professor Carlos Alberto da Rocha Rosa para ingressar, em 2002, no Mestrado em Microbiologia Veterinária. Minha dissertação tomou o rumo do mar e começamos a realizar trabalhos práticos de coleta de fitoplâncton para identificação das microalgas toxígenas e das toxinas nos moluscos coletados na baía de Sepetiba (RJ). Fui orientada pelo Professor Pedro Paulo de Oliveira Silva e fui bolsista da CAPES. Ao concluir minha dissertação em 2004 permaneci na linha de pesquisa auxiliando meus companheiros em seus trabalhos de dissertação e tese. Em 2005 fui selecionada para o doutorado em Ciências Veterinárias (Sanidade Animal) da UFRRJ, permanecendo na mesma linha de pesquisa em toxinas marinhas, também como bolsista da CAPES, sendo orientada pelos professores Hélcio Resende Borba e Pedro Paulo O. Silva. A linha de pesquisa foi ganhando novos integrantes, cresceu e tornou-se o Laboratório de Toxinas Marinhas (ToxMar). O caráter multidisciplinar da linha de pesquisa onde atuo reflete-se em vários congressos onde apresentamos trabalhos: ficologia, biologia marinha, higienistas de alimentos, entre outros. No final de 2005 iniciei meus trabalhos como docente ministrando a disciplina Biologia Marinha, no Instituto de Biologia da UFRRJ, função que desempenhei por dois anos como professora substituta e mais um semestre como professora convidada. Em 2006 fui selecionada para um curso pré-congresso de ficologia com a pesquisadora Beatriz Reguera do Centro Oceanográfico de Vigo, referência mundial na pesquisa de microalgas nocivas. O bom desempenho apresentado nesse curso rendeu-me convite para realizar um aperfeiçoamento neste centro de pesquisa em 2007. Atualmente sou responsável pela disciplina de Fundamentos de Aquacultura da Faculdade de Oceanografia (UERJ). E atuo em prol do desenvolvimento da malacocultura, sob os enfoques de sustentabilidade, sanidade animal e segurança alimentar.

## RESUMO

FERREIRA, Vanessa de Magalhães. **Distribuição espacial, em microescala, e sazonal das microalgas potencialmente toxígenas *Dinophysis* spp. (Ehremberg 1839) na ilha Guaíba (Mangaratiba, RJ) e suas possíveis implicações no cultivo de moluscos bivalvos.** 2009. 107f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Na ilha Guaíba (município de Mangaratiba, litoral sul do Rio de Janeiro) localiza-se a fazenda marinha da Associação de Maricultores de Mangaratiba. O principal molusco cultivado é o mexilhão *Perna perna*, que se alimenta principalmente de organismos fitoplanctônicos (microalgas). No entanto, na comunidade fitoplanctônica podem estar presentes microalgas nocivas, como os dinoflagelados *Dinophysis* spp. que podem produzir toxinas diarréicas. A principal ficotoxina diarréica produzida por essas microalgas é o ácido okadaico (AO), já anteriormente detectado na região e associado à *D. acuminata*. Tal ficotoxina encontra-se implicada na síndrome Envenenamento Diarréico por Moluscos, que acomete humanos, apresentando como efeito agudo sintomatologia gastrintestinal (vômito, dor abdominal e diarreia) e crônico promoção de carcinogênese no estômago e intestino. Em relação à sanidade animal o AO afeta o sistema imune dos mexilhões tornando-os susceptíveis à patógenos e poluentes. Além disso, é genotóxico e pode levar à perda de biodiversidade genética de *P. perna*. *Dinophysis*, como todo organismo planctônico, apresenta uma restrita capacidade de natação. No entanto, sob condições de estabilidade da coluna d'água o dinoflagelado pode agregar-se em determinadas profundidades, o que pode vir a se tornar um agravante na contaminação de moluscos se houver produção de AO. Tal distribuição em microescala resulta da interação entre fatores bióticos e abióticos. Dessa forma o presente trabalho buscou identificar e quantificar as espécies de *Dinophysis* presentes na ilha Guaíba, bem como verificar se houve a formação de adensamentos ao longo da coluna d'água ao longo de um ano. Foram realizadas coletas mensais, ao longo de um perfil vertical de 8 metros de profundidade, sempre na preamar. As microalgas foram coletadas com garrafa Van-Dorn e fixadas com formaldeído para posterior realização de microscopia em campo claro e contraste de fase. Foram mensuradas: temperatura, salinidade, profundidade Secchi. Dados climatológicos de pluviosidade, intensidade e direção dos ventos foram cedidos pela Cia. Vale. Foram identificadas 6 espécies de *Dinophysis*: *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. cf ovum*, *D. tripos* e *D. rotundata*. A análise de classificação revelou que *D. acuminata* foi dominante (Fitopac v1.6,  $p < 0,001$ ), além de ser a espécie mais frequente e abundante ao longo de todo o ano. Apenas durante o verão a espécie apresentou maior densidade celular (média de 297 células.l<sup>-1</sup>, uma abundância relativa considerada baixa pela literatura) no estrato de 0-4 metros de profundidade, do que no estrato > 4 metros (160 células.l<sup>-1</sup>), significativamente diferente do resto do ano (ANOVA,  $p < 0.0001$ ). *D. fortii* e *D. rotundata* foram co-dominantes no verão e outono/inverno, respectivamente. As demais espécies ocorreram como acessórias. *D. ovum* apenas ocorreu no verão e o presente trabalho é o primeiro relato da espécie em águas brasileiras. Análise de redundância revelou que dos parâmetros hidrológicos e climatológicos analisados apenas salinidade e vento (selecionadas pelo Teste de Monte Carlo) explicaram 11% da variância dos dados de distribuição de *Dinophysis*. Embora não tenha sido realizada análise para a presença do ácido okadaico salienta-se que todas as espécies identificadas são relatadas como potenciais produtoras de toxinas diarréicas. Dessa forma faz-se necessário a realização de uma avaliação de risco em relação às toxinas diarréicas com vistas à sanidade animal e à segurança para a saúde pública. Palavras-chave: Toxinas diarréicas. Monitoramento. Malacocultura.



## ABSTRACT

FERREIRA, Vanessa de Magalhães. **Spacial, in microscale, and sazonal distribution of toxic microalgae *Dinophysis* spp. (Ehremberg 1839) at Guaíba island (Mangaratiba, RJ) and yours probably implications in bivalves culture.** 2009. 107f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

At Guaíba island (Mangaratiba municipality, south coast of Rio de Janeiro) is located the Association of Marine Maricultores of Mangaratiba's farm. The region has excellent conditions for growth of molluscs bivalves: mild water temperatures, mesotrophic and with good sanitary conditions (under bacteriological aspects). The crop is the main shellfish mussel *Perna perna*, which feeds mainly phytoplanktonic organisms (microalgae). However, the phytoplankton community may be present harmful microalgae such as dinoflagellates *Dinophysis* spp. that can produce diarrhoetic toxins. The main diarrhoetic phycotoxin produced by these microalgae is okadaic acid (OA), previously detected in the region and associated with *D. acuminata*. This phycotoxin is implicated in the syndrome Diarrhoetic Shellfish Poisoning, which affects humans, showing the acute effect gastrointestinal symptoms (vomiting, abdominal pain and diarrhea) and chronic promotion of carcinogenesis in the stomach and intestine. Regarding the animal sanity OA affects the immune system of mussels making them susceptible to pathogens and pollutants. In addition is genotoxic and can lead to loss of genetic biodiversity of *P. perna*. This effect can generate mutations that compromise the future generations of shellfish can lead to disastrous consequences for the miticulture. *Dinophysis* as planktonic organism, has a limited ability to swim. However, under conditions of stability of the water column the dinoflagellate may attach to certain depths, which may become an aggravating factor in the contamination of shellfish if production of OA. This distribution on the microscale is from the interaction between biotic and abiotic factors. Thus the present work to identify and quantify the *Dinophysis* species present at Guaíba island and verify whether the formation of density along the water column over a year. Were collected monthly, in high tide, over a vertical profile of 8 meters deep. The microalgae were collected with Van-Dorn bottle and fixed with formaldeído for further work on microscopy. We measured temperature, salinity, Secchi depth. Climatological data of rainfall, intensity and direction of winds were released by Vale. We identified 6 species of *Dinophysis*: *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. ovum*, *D. tripos* and *D. rotundata*. The Cluster analysis revealed *D. acuminata* was dominant (Fitopac v1.6,  $p < 0.0001$ ), besides being the most frequent and abundant throughout the year. Only the species during summer showed higher cell density (average of 297 células.l<sup>-1</sup>, a low relative abundance according literature) in the stratum of 0-4 meters deep, than in the stratum > 4 meters (160 células.l<sup>-1</sup>), significantly different from the rest of the year (ANOVA,  $p < 0.0001$ ). *D. fortii* and *D. rotundata* were co-dominant in summer and autumn/winter, respectively. The remaining species occurred as incidental. *D. ovum* only occurred in summer and this work is the first report of this species in Brazilian waters. Redundancy analysis showed that the hydrological and climatological parameters analyzed only salinity and wind (selected by the Monte Carlo test) explained 11% of the variance of the data distribution of *Dinophysis*. Although no analysis has been performed for the presence of okadaic acid that all identified species are reported as potential producers of toxins diarrhea. Thus it is necessary for an evaluation of risk for diarrhoetic toxins aimed at animal health and safety to public health in the region.

Key words: Diarrhoetic toxins. Monitoring. Malacoculture.

## LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
<p><b>Figura 01.</b> 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) e disponível em <a href="http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Medulis/en">http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Medulis/en</a></p>	04
<p><b>Figura 02.</b> Valva direita da ostra do Pacífico <i>Crassostrea gigas</i>. A) Aspecto externo irregular e áspero, umbo em destaque. B) Aspecto interno, liso e nacarado, cicatriz do músculo adutor visível, umbo em destaque. Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <a href="http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cgigas/en">http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cgigas/en</a></p>	05
<p><b>Figura 03.</b> Valvas da vieira <i>Patinopecten yessoensis</i>. A) Valva esquerda, em visão externa, exibindo costelas radiais e umbo em destaque; B) Valva direita em visão interna, exibindo cicatriz única do músculo adutor, umbo em destaque. Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <a href="http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Pyesso/en">http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Pyesso/en</a></p>	05
<p><b>Figura 04.</b> Anatomia interna de um pectínídeo <i>Argopecten gibbus</i>. Mostrando sistemas digestivo, muscular, reprodutivo e respiratório. Adaptado de Helm; Bourn, 2006.</p>	06
<p><b>Figura 05.</b> Anatomia interna de um mitilídeo <i>Perna perna</i>. Corte em seção longitudinal. Visão em meia valva. Adaptado de <a href="http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca/pe/profil/mussel-moule/mussel-moule-e.php">http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca/pe/profil/mussel-moule/mussel-moule-e.php</a></p>	07
<p><b>Figura 06.</b> Anatomia interna de uma ostra, <i>Ostrea edulis</i>. Tubo digestivo completo, sistema respiratório (brânquias) e fluxo de água. Adaptada de <a href="http://content.cdlib.org/xtf/data/13030/n3/kt629004n3/figures/caljsiol_sio1ca175_123_012.gif">content.cdlib.org/xtf/data/13030/n3/kt629004n3/figures/caljsiol_sio1ca175_123_012.gif</a></p>	07
<p><b>Figura 07.</b> Distribuição geográfica de mexilhões do gênero <i>Perna</i>. Extraída de Wood et alli (2007). Setas indicam local de amostragem do trabalho referenciado.</p>	10
<p><b>Figura 08.</b> Distribuição geográfica da ostra <i>Crassostrea gigas</i>. Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <a href="http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cgigas/en">http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cgigas/en</a></p>	11
<p><b>Figura 09.</b> Fazenda Marinha da Associação de Maricultores de Mangaratiba, RJ. A) Sistema de cultivo suspenso, denominado espinhel, em vista panorâmica. Bombonas brancas e azuis constituem o sistema de flutuação do espinhel. Ao longo do cabo mestre (submerso assinalado com seta) ficam dispostas as cordas de mexilhões (B) e as lanternas com vieiras e ostras (C). Fotos da autora, exceto item c) FIPERJ.</p>	14
<p><b>Figura 10.</b> Percentual dos grandes grupos da produção aquícola mundial. A) Por quantidade dos 60 milhões de toneladas produzidos; B) Por valor dos US\$ 70 bilhões gerados. Modificado de FAO (2006a).</p>	15
<p><b>Figura 11.</b> Toxinas lipossolúveis envolvidas no Envenenamento Diarréico por Moluscos. A) Ocadaiatos; B) Pectenotoxinas e C) Yessotoxinas. Adaptado de Suzuki et alli (2005).</p>	20
<p><b>Figura 12.</b> Ordem Dinophysiales (Lindemann 1928). Composta por três famílias: a) Amphisoleniaceae, representada por <i>Amphisolenia bidentata</i> escala 100 µm; b) Dinophysiaceae, representada por <i>Dinophysis acuta</i>, escala 10 µm; c) Oxyphysiaceae representada por <i>Oxyphysis oxytoxoides</i>, escala 10µm. Adaptado de Steidinger; Tangen (1997).</p>	28
<p><b>Figura 13.</b> Representação esquemática de <i>Dinophysis</i>. A) Célula em visão lateral, valva direita: aca – aleta cingular anterior; acp – aleta cingular posterior; a – aleta sulcal direita; b- aleta sulcal esquerda; epiteca oculta pela aleta cingular anterior. B) Célula em visão ventral: c – cingulo; s – sulcus; vd – valva direita; ve – valva esquerda; h - hipoteca. Adaptada de Balech (2002).</p>	29

- Figura 14.** Fotomicrografia de *D. tripos* células recém divididas. Notar a divisão da aleta sulcal esquerda em a e b. A célula filha da esquerda herdou a porção inicial a e os dois primeiros raios ( $R_1$  e  $R_2$ ). A célula filha da direita permaneceu com a porção final da aleta b, com o último raio  $R_3$  e com a aleta sulcal direita (asd). O processo de divisão termina com a completa regeneração das aletas sulcais. Foto da autora, enseada de Maciéis, Angra do Reis, RJ. 30
- Figura 15.** Esquema da tabulação da teca de *Dinophysis* em visão ventral, sem as aletas cingulares e sulcais.  $A_1$  e  $A_2$ : placas do poro apical;  $P_o$ : poro apical;  $E_{1-4}$ : placas da epiteca;  $C_{1-4}$ : placas cingulares;  $H_{1-4}$ : placas da hipoteca;  $S_a$ : sulcal anterior;  $S_s$ : sulcal sinister, i.e. esquerda;  $S_d$ : sulcal dexter, i.e. direita;  $S_p$ : sulcal posterior;  $P_f$ : poro flagelar. Adaptada de Taylor (1980) apud Taylor (1987). 31
- Figura 16.** Janela de tempo da distribuição de *Dinophysis*, em amostragem semanal, ao longo de 12 anos (1989-2000) na baía de Vilaine, França. Adaptado de Xie et alii, 2007. 36
- Figura 17.** Baía de Sepetiba, litoral sul do estado do Rio de Janeiro, onde se localiza a Ilha Guaíba, município de Mangaratiba. Assinalada com seta no mapa a ponta da Passagem onde localiza-se a fazenda marinha da AMAR. 37
- Figura 18.** *Dinophysis acuminata* exemplares de verão (dezembro de 2007), fotomicrografias em aumento de 400x. A) Variedade acuminata em microscopia de contrastes de fase, em evidência os três raios da aleta sulcal esquerda ( $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$ ); B) Variedade lachmani em microscopia de campo claro, em detalhe vacúolos alimentares e n (núcleo); C) Variedade lachmani, teca vazia evidenciando a ornamentação regular da hipoteca com auréolas, microscopia de campo claro; D) Variedade lachmani, detalhe da região antapical retilínea na porção ventral. 41
- Figura 19.** *Dinophysis acuminata* variedade lachmani, exemplares de inverno (julho de 2007), fotomicrografias em aumento de 400x. A) Célula em contraste de fase; B) Microscopia de campo claro evidenciando os três raios ( $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$ ) da aleta sulcal esquerda; C) e D) a mesma célula em campo claro e contraste de fase, em evidência vacúolos alimentares. 42
- Figura 20.** *Dinophysis caudata*. Célula em visão lateral (valva esquerda), microscopia de campo claro aumento de 200x. Detalhes taxonômicos: aca, aleta cingular anterior em forma de funil; seta, projeção antapical ventral. 43
- Figura 21.** *Dinophysis fortii* exemplares de verão, fotomicrografias em aumento de 400x. A) células pareadas, recém divididas em contraste de fase, de fevereiro, no detalhe porção final da aleta sulcal esquerda herdada pela célula filha; B) as mesmas células pareadas, recém divididas em microscopia de campo claro; C) exemplar de fevereiro; D) exemplar de dezembro, no detalhe região ventral retilínea. 44
- Figura 22.** *Dinophysis ovum*, setas indicam áreas de convexidade na região ventral e antapical, linhas tracejadas a parte mais larga da célula na altura de  $R_3$ . Exemplares de verão. A) Fotomicrografia em contraste de fase no aumento de 400x; B) Fotomicrografia em campo claro no aumento de 200x; C) Fotomicrografia em contraste de fase no aumento de 400x; D) Microscopias em campo claro, aumento de 400x. 45
- Figura 23.** *Dinophysis tripos*, exemplares de primavera, fotomicrografias em aumento de 200x. A) Célula recém-dividida, microscopia de campo claro, em detalhe a pequena aleta sulcal direita, notar que a microalga possui apenas a porção final da aleta sulcal esquerda; B) Célula recém-dividida, porção final da aleta sulcal esquerda regenerada, porém ainda sem reticulação, assinalados os três grandes espinhos que sustentam a aleta, seta assinala a aleta cingular anterior, com seus raios. 46
- Figura 24.** *Dinophysis tripos* exemplares de verão, fotomicrografias em campo claro, aumento de 200x. 47

<b>Figura 25.</b> <i>Dinophysis rotundata</i> fotomicrografias em aumento de 400x. A) exemplar de outono, célula plena de vacúolos alimentares; B) exemplar de inverno; C) exemplar de primavera; D) exemplar de verão, presença de vacúolos alimentares porém menos evidentes. Todas as fotomicrografias em campo claro exceto B) contraste de fase. Notar em todas as fotos a epiteca convexa.	48
<b>Figura 26.</b> Variação da densidade celular de <i>Dinophysis acuminata</i> em relação à profundidade e às estações do ano.	49
<b>Figura 27.</b> Somatório das densidades celulares de cada espécie de <i>Dinophysis</i> identificada para a ilha Guaíba, durante o período analisado (ao longo de uma coluna d'água de 8 metros de profundidade).	54
<b>Figura 28.</b> Dendrograma com as relações existentes entre as espécies dominantes e acessórias nos dois grupos determinados por análise de classificação no modo R, para a comunidade de <i>Dinophysis</i> na ilha Guaíba, 2007/2008.	55
<b>Figura 29.</b> Dendrograma análise de classificação no modo Q das coletas em função da ocorrência de <i>Dinophysis</i> spp. a um nível de corte de 2,5.	56
<b>Figura 30.</b> Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de verão, na ilha Guaíba.	60
<b>Figura 31.</b> Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de outono, na ilha Guaíba.	61
<b>Figura 32.</b> Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de inverno, na ilha Guaíba.	62
<b>Figura 33.</b> Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de primavera, na ilha Guaíba.	63
<b>Figura 34.</b> Variação da profundidade Secchi ao longo do período analisado, na ilha Guaíba.	64
<b>Figura 35.</b> Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de verão, na ilha Guaíba.	64
<b>Figura 36.</b> Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de outono, na ilha Guaíba.	65
<b>Figura 37.</b> Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de inverno, na ilha Guaíba.	66
<b>Figura 38.</b> Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de primavera, na ilha Guaíba.	67
<b>Figura 39.</b> Plano canônico da Análise de Redundância (RDA) utilizando a matriz de abundâncias de dinoflagelados (espécies de <i>Dinophysis</i> ) e a matriz de variáveis ambientais significativas salinidade (modo principal de variação, eixo I) e velocidade do vento (modo secundário de variação, eixo II). Grupo 1 – Dominância de <i>D. acuminata</i> e <i>D. fortii</i> , em abundâncias relativas maiores, com presença de todas as espécies de <i>Dinophysis</i> em pelo menos uma amostra. Grupo 2 - Presença de todas as espécies, exceto <i>D. caudata</i> . Dominância de <i>D. acuminata</i> e <i>Dinophysis</i> spp.; Grupo 3 - Dominância de <i>D. acuminata</i> e <i>D. rotundata</i> , com baixas abundâncias relativas; Grupo 4 – Dominância de <i>D. fortii</i> e <i>D. rotundata</i> em baixas abundâncias relativas; Grupo 5 - Amostras onde ocorreu apenas <i>D. acuminata</i> .	69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01.</b> Distribuição e abundância de <i>Dinophysis acuminata</i> . Comparação entre resultados encontrados pelo presente trabalho (FERREIRA, 2009) e dados da literatura consultada.	50-51
<b>Tabela 02.</b> Densidades celulares de <i>Dinophysis acuminata</i> ao longo da coluna d'água e dos meses amostrados. Valores em células.l <sup>-1</sup> .	53
<b>Tabela 03.</b> Grupos da análise no Modo Q. Teste de significância dos grupos executado pelo Modelo de permutações de Monte Carlo. Todos os grupos foram significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ).	57
<b>Tabela 04.</b> Parâmetros climatológicos (médios mensais) da estação meteorológica localizada na ilha Guaíba. Fornecidos gentilmente pela Cia. Vale.	62
<b>Tabela 05.</b> Autovalores e inércia total obtidos através da análise de redundância à partir dos parâmetros 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>Dinophysis</i> spp. selecionadas pela Análise de Monte Carlo.	63
<b>Tabela 06.</b> Resultado do teste de Monte Carlo para significância das relações entre variáveis ambientais e distribuição de Dinoflagelados ( $p \leq 0,05$ ).	64

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 01.</b> Listas das microalgas potencialmente tóxicas e suas substâncias bioativas.	17
<b>Quadro 02.</b> Dados utilizados no Cálculo da Dose Aguda de Referência para a toxina diarréica ácido okadaico (e equivalentes) por pesquisadores <i>Ad hoc</i> da FAO/IOC/WHO para Biotoxinas Marinhas (UNESCO, 2005) comparado ao recomendado pela European Food Safety Authority (ALEXANDER et alii, 2008).	25

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	01
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	04
2.1 Moluscos Bivalvos	04
2.1.1 Taxonomia e aspectos gerais	04
2.1.2 Morfologia externa	04
2.1.3. Morfofisiologia	06
2.1.4 Bioecologia	09
2.1.4.1 <i>Perna perna</i> (Linnaeus 1758)	10
2.1.4.2 <i>Crassostrea gigas</i> (Thunberg 1793)	11
2.1.4.3 <i>Nodipecten nodosus</i> (Linnaeus 1758)	11
2.1.5 Uso de bivalvos como bioindicadores ambientais e sanitários	12
2.2. Malacocultura	14
2.3. Ficotoxinas Diarréicas	16
2.3.1 Ficotoxinas: produtos naturais marinhos	16
2.3.2 Ocadaiatos	20
2.3.3 Implicações na saúde pública: envenenamento diarréico por moluscos	24
2.3.4 Efeitos adversos na sanidade de moluscos bivalvos	26
2.4 Dinoflagelados do Gênero <i>Dinophysis</i> (Ehremberg 1839)	28
2.4.1 Classificação	28
2.4.2 Aspectos morfométricos: taxonomia	29
2.4.3 Bioecologia	32
2.4.4 Fatores que interferem na sua distribuição	34
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	37
3.1 Área de Estudos	37
3.2 Coleta	39
3.2.1 Das microalgas	39
3.2.2 Das variáveis oceanográficas	40
3.3 Identificação e Quantificação de <i>Dinophysis</i>	40
3.4 Análise Estatística	40
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	41
4.1 Identificação das Espécies	41
4.1.1 <i>Dinophysis acuminata</i> (Claparède & Lachmann 1859)	41
4.1.2 <i>Dinophysis caudata</i> (Saville-Kent 1881)	43
4.1.3 <i>Dinophysis fortii</i> (Pavillard 1923)	44
4.1.4 <i>Dinophysis ovum</i> (Schütt 1895)	45
4.1.5 <i>Dinophysis tripos</i> (Gourret 1883)	46
4.1.6 <i>Dinophysis rotundata</i> (Claparède & Lachmann 1859)	47
4.2 Distribuição Espacial e Temporal de <i>D. acuminata</i>	48
4.3 Distribuição Espacial e Temporal de <i>Dinophysis</i> spp.	53
4.4 Dominância na Comunidade de <i>Dinophysis</i> spp.	55
4.5 Influência dos Fatores Abióticos na Distribuição de <i>Dinophysis</i> spp.	59
<b>5. CONCLUSÕES</b>	71
<b>6. RECOMENDAÇÕES</b>	72
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	73

## 1. INTRODUÇÃO

O conceito de sanidade animal tem sido amplamente aplicado a vertebrados criados com fins de produção. Dessa forma ‘sanidade’ diz respeito à saúde geral do animal, contemplando aspectos microbiológicos, parasitários e toxicológicos, abarcando enfermidades zoonóticas ou não.

Aspectos e práticas ligados à manutenção da sanidade refletem-se no aumento da produtividade e na qualidade dos produtos de origem animal gerados, quando destinados à alimentação humana. Tais práticas podem atuar de diversas maneiras: a) preventivamente no estabelecimento de um bom ambiente na criação contribuindo para a promoção da saúde animal; b) rotineiramente na detecção de quaisquer anomalias que possam trazer dano aos animais cultivados; c) na forma de medidas que venham reestabelecer as condições normais de criação após um episódio de enfermidade e/ou situação potencialmente nociva.

Embora sejam organismos invertebrados, moluscos aquáticos cultivados são animais de produção destinados exclusivamente à alimentação. O cultivo de tais organismos é denominado malacocultura, também havendo denominações específicas como mitilicultura, ostreicultura e pectinicultura (cultivo de mexilhões, ostras e vieiras, respectivamente). No Brasil a criação acontece em ambiente marinho costeiro, utilizando-se de estrutura flutuante denominada espinhel onde os animais ficam dispostos em cordas (mexilhões) ou em lanternas (vieiras e ostras).

Segundo recente revisão do cenário mundial da aquicultura realizado pelas Organizações para Alimentação e Agricultura (Food and Agriculture Organization – FAO) moluscos aquáticos ocupam a terceira colocação tanto em volume de produção (22,31% dos 60 milhões de toneladas produzidos) quanto em valores (14,18% dos U\$ 70 bilhões gerados). A China lidera a produção mundial de moluscos e o Brasil é o segundo produtor na América Latina. A produção nacional é liderada por Santa Catarina (em fase de industrialização da cadeia produtiva), seguido por São Paulo, Espírito Santo e Rio de Janeiro. No Brasil são cultivadas principalmente três espécies: o mexilhão *Perna perna* (Linnaeus 1758), a vieira *Nodipecten nodosus* (Linnaeus 1758) e a ostra do pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793), sendo as duas primeiras espécies nativas de nosso litoral. No ano 2000 75% dos bivalvos disponíveis para o consumo foram fornecidos por cultivos.

A produção de organismos aquáticos vem crescendo no Brasil a taxas maiores que encontradas no cenário internacional. Enquanto a aquicultura mundial cresce cerca de 8% ao ano, em 2004 o Brasil apresentou crescimento de 15,5%. Esse incremento foi maior que o apresentado na criação de aves (5%), suínos (3%) e bovinos (5,2%) para o mesmo período. Além disso, com um litoral de mais de 8000km, o Brasil apresenta grande potencial para a malacocultura, podendo expandir a produção de alimento sem que haja o tradicional conflito com fronteiras florestais, agrícolas ou para habitação.

No entanto a FAO aponta como grande entrave ao desenvolvimento da atividade malacocultora, entre outros problemas de ordem técnica, a questão sanitária dos moluscos produzidos no Brasil. Moluscos bivalves são filtradores, ou seja, alimentam-se de organismos fitoplanctônicos e de matéria orgânica particulada presentes em suspensão na coluna d’água onde são cultivados. Podem filtrar muitos litros de água do mar por hora dependendo da espécie (por exemplo, 3 litros para um mexilhão adulto em condições ambientais ideais) e reter até 90% do material particulado presente. Dessa forma podem bioacumular de 100 à 1000 vezes patógenos ou substâncias nocivas presentes na água de cultivo, e dessa forma podem vir a atuar como veículo de diversas enfermidades para humanos consumidores.

Até o presente momento o fomento à malacocultura tem sido focado na busca de sustentabilidade para a atividade: fornecimento regular de sementes, otimização de sistemas de cultivo, por exemplo. No entanto, conforme já alertado pela FAO, urge quebrar esse



paradigma, buscando integrar aspectos ligados à sanidade dos animais e à segurança alimentar. Para que se logre em atingir o desenvolvimento social e econômico pretendido pela malcocultura.

Na comunidade fitoplanctônica, principal fonte nutricional para moluscos cultivados e base da teia trófica marinha, pode-se encontrar microalgas nocivas, potencialmente produtoras de substâncias naturais bioativas, denominadas ficotoxinas. Essas espécies de microalgas são ditas ‘potencialmente produtoras’ pois sua presença na coluna d’água *per se* não implica na obrigatoriedade da produção das ficotoxinas. Atualmente o contexto oceanográfico e ecológico da produção de tais bioativos naturais é um tema muito estudado, mas ainda não elucidado.

Várias síndromes de envenenamento por molusco já foram formalmente definidas: agente etiológico, substâncias tóxicas envolvidas, sintomatologia, normatização de limites, metodologias de detecção validadas. Internacionalmente já existem programas de monitoramento (das microalgas nocivas e das ficotoxinas na carne dos moluscos) e legislação adequados que regulamentam o consumo de moluscos bivalvos com vistas à sanidade e segurança alimentar. E as linhas de pesquisa envolvidas no seu estudo caracterizam-se pela multidisciplinaridade abarcando a oceanografia, a veterinária, a biologia, a medicina, a química, entre outras áreas de conhecimento.

Ficotoxinas representam um dos maiores problemas de saúde pública, em nível mundial, associado ao consumo de moluscos. A síndrome **Envenenamento Diarréico por Moluscos** (EDM) é uma das mais amplamente distribuídas e tem como principal toxina o ácido okadaico (AO). Como o EDM possui vômitos e diarreia como principais sintomas pode facilmente ser confundido com uma toxiose bacteriana ou uma infecção viral. Além disso, a maior parte do sistema de saúde brasileiro desconhece a síndrome, que provavelmente encontra-se sujeita a subnotificação considerando-se o contexto brasileiro. A sintomatologia gastrointestinal é o resultado da exposição aos efeitos agudos da ficotoxina AO. No entanto os consumidores expostos constantemente à baixas concentrações da toxina podem desenvolver seu efeito crônico: carcinogênese no estômago ou intestino.

Além das implicações na saúde pública a sanidade dos moluscos também é afetada pela toxina diarréica. Mexilhões *P. perna* apresentam formação de micronúcleos em seus hemócitos quando expostos à baixas concentrações do AO. Isso significa que a genotoxicidade do AO pode levar à perda de biodiversidade genética nos animais expostos, levando à mutações indesejáveis nas próximas gerações. E isso pode trazer prejuízos imprevisíveis à mitilicultura. A resposta imune também é afetada tornando-os mais susceptíveis à patógenos e poluentes.

Ainda há poucos e esparsos registros da ocorrência e abundância de microalgas nocivas em nosso litoral, como por exemplo, os gêneros de dinoflagelados envolvidos na produção de toxinas diarréicas *Prorocentrum* e *Dinophysis*. Segundo dados disponíveis na Plataforma Lattes o início da pesquisa nessa linha é muito recente, datando da década de 90. Portanto encontra-se ainda em fase descritiva, sendo principalmente documentado para o litoral catarinense. Santa Catarina é o único estado brasileiro a contar com um programa de monitoramento e legislação que aborde o assunto, tornando notificação obrigatória à ocorrência de casos diarréicos associados ao consumo de moluscos.

O gênero *Dinophysis* é característico de águas oceânicas e neríticas, e são encontradas em todas as latitudes. *Dinophysis acuminata* é a espécie que apresenta distribuição mais ampla, ocorrendo em todos os oceanos e é a maior implicada na produção de toxinas diarréicas. No Brasil já foi associada à produção de AO nas baías de Sepetiba e Ilha Grande, e recentemente no primeiro surto de EDM relatado em Santa Catarina.

Dinoflagelados, como todo organismo planctônico, possuem restrita capacidade de natação sendo as espécies características de uma determinada massa d’água. Em macroescala

as espécies se distribuem latitudinalmente, principalmente em função da temperatura; embora haja espécies que possuam ampla distribuição, como *D. acuminata*.

Em mesoescala o movimento e as misturas de diferentes massas d'água influenciam diretamente na composição de uma comunidade fitoplanctônica contribuindo ora para a entrada de espécies, ora para sua dispersão. Assim o movimento das marés, o vento, vórtices, exercem influência direta sobre a dinâmica das comunidades de microalgas. A maioria das espécies de *Dinophysis* tem como habitat preferencial águas neríticas, ou seja, aquelas localizadas acima da plataforma continental.

Em microescala (de metros à decímetros) a distribuição das microalgas é a resultante de um balanço entre variáveis bióticas e abióticas na busca pelo ótimo de desenvolvimento para cada espécie de microalga. Dessa forma condições de estabilidade de uma coluna d'água podem propiciar um acúmulo de dinoflagelados em uma determinada profundidade, principalmente onde haja formação de barreiras de densidade.

Tal acúmulo de *Dinophysis* pode contribuir para uma maior probabilidade de contaminação para os moluscos cultivados, se ficotoxinas estiverem sendo produzidas. E, segundo a Comissão Ocenográfica Intergovernamental, todo ambiente onde haja extração ou cultivo de moluscos sem o devido monitoramento higiênico-sanitário deve ser considerado um risco para a saúde pública.

A fazenda marinha da Associação de Maricultores de Mangaratiba localiza-se na baía de Sepetiba (litoral sul do estado do Rio de Janeiro), corpo d'água considerado um estuário parcialmente misturado. A ilha encontra-se na boca da baía, porção mais exposta à influência do oceano Atlântico onde encontram-se menores variações de salinidade. É um ambiente abrigado, raso, de excelente condição sanitária (do ponto de vista bacteriológico), com temperaturas amenas, pouca variação de salinidade e sujeito à forte influência das correntes de maré. Como a baía é um ambiente mesotrófico há grande oferta de alimento para os moluscos.

A principal espécie cultivada é o mexilhão *Perna perna*, mas experimentalmente o crescimento da vieira *N. nodosus* foi considerado muito satisfatório (dados não apresentados nessa tese). Dessa forma o ambiente apresenta grande potencial ao desenvolvimento da malacocultura. É mister salientar que neste município a malacocultura tem forte contexto social ao representar uma possibilidade de melhoria de qualidade de vida à comunidades que anteriormente viviam de atividades extrativistas.

O presente trabalho teve por objetivos estudar a composição da comunidade de *Dinophysis* ao longo da coluna d'água e dentro do período de um ano. Foram identificadas e quantificadas as espécies presentes, bem como avaliados os perfis de salinidade, temperatura, e verificados a profundidade Secchi, a intensidade e direção dos ventos e a pluviosidade. Buscou-se correlacionar fatores bióticos referentes às *Dinophysis* às variáveis hidrológicas e parâmetros climatológicos (fatores abióticos) visando estabelecer uma relação que evidenciasse o contexto oceanográfico que modulasse sua distribuição temporal e espacial.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Moluscos Bivalvos

#### 2.1.1 Taxonomia e aspectos gerais

São animais aquáticos pertencentes ao Filo Mollusca, Classe Bivalvia (também denominada Pelecypoda ou Lamellibranchiata). Caracterizam-se pela presença de duas estruturas rígidas, constituídas de carbonato de cálcio denominadas valvas, que protegem a massa corporal mole, sem segmentação, comprimida lateralmente (LEAL, 2008).

Domínio Eukaria

Filo Molusca

Classe Bivalvia

Ordem Mytiloidea

Família Mytilidae

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

Ordem Ostreoida

Família Ostreidae

Gêneros *Crassostrea*, *Ostrea*

Ordem Pteroida

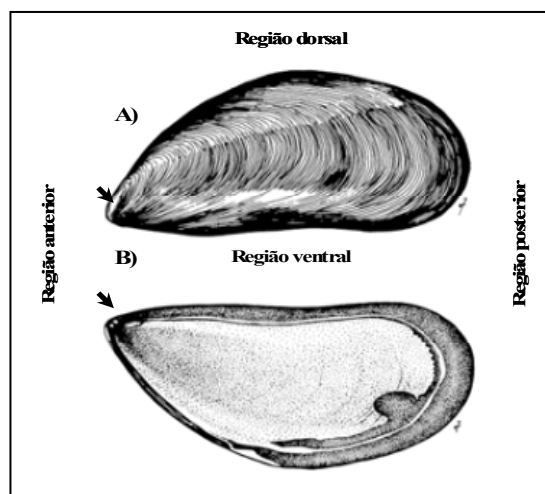
Família Pectinidae

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

Todos os moluscos bivalves adultos habitam o domínio bentônico, principalmente em substratos consolidados. Fixam-se ao fundo através de filamento protéico chamado bisso (Mytiloidea) ou através da cimentação da valva esquerda (Ostreoida). Pteroida possui gêneros que podem ocorrer sobre substratos consolidados ou inconsolidados e que apresentam capacidade de natação (embora possam produzir pequena quantidade de bisso). Indivíduos de várias ordens de bivalvos podem viver enterrados em sedimento inconsolidado, como infauna.

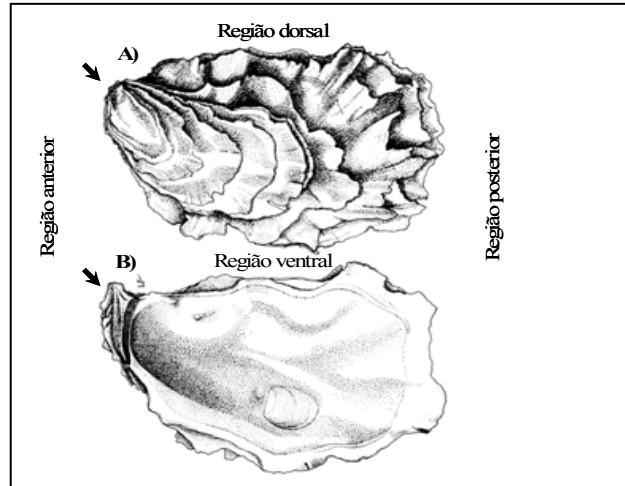
#### 2.1.2 Morfologia externa (HELM; BOURNE, 2006).

As valvas destes moluscos dividem-se sempre em direita e esquerda. Em Mytiloidea as valvas são equivalves, lisas tanto externa quanto internamente, com presença de umbo na região anterior (Figura 01). Perióstraco é produzido pelo manto e recobre externamente as valvas dando-lhes coloração: azulada (*M. edulis*), amarronzada (*P. perna*) ou esverdeada (*P. viridis*). Internamente as valvas são nacaradas iridescentes e marcadas com a cicatriz do músculo adutor posterior.



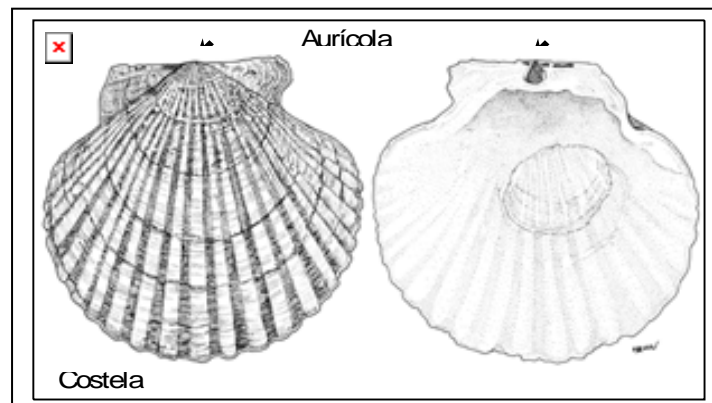
**Figura 01.** Valva direita do mexilhão *Mytilus edulis*. A) Aspecto externo, mostrando linhas de crescimento e umbo; B) Aspecto interno, mostrando borda interna do perióstraco, cicatriz do músculo adutor posterior e umbo (em destaque). Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Medulis/en>

Em Ostreoida as valvas são inequivalves, a esquerda encontra-se cimentada em substrato consolidado e é acentuadamente côncava como uma xícara; a valva direita é suavemente convexa (Figura 02). Externamente a valva direita é muito áspera com aspecto laminar. Internamente as valvas são lisas, branco nacaradas, com uma única cicatriz muscular.



**Figura 02.** Valva direita da ostra do Pacífico *Crassostrea gigas*. A) Aspecto externo irregular e áspero, umbo em destaque. B) Aspecto interno, liso e nacarado, cicatriz do músculo adutor visível, umbo em destaque. Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cgigas/en>

Em Pteroida o animal apóia-se no fundo sobre a valva direita, que pode ser acentuadamente convexa dependendo da espécie, a esquerda apresenta ornamentações na forma de costelas radiais, com presença de nós bulbosos dependendo da espécie; o umbo é ladeado por um par de aurículas, que podem ser desiguais dependendo da espécie (Figura 03).

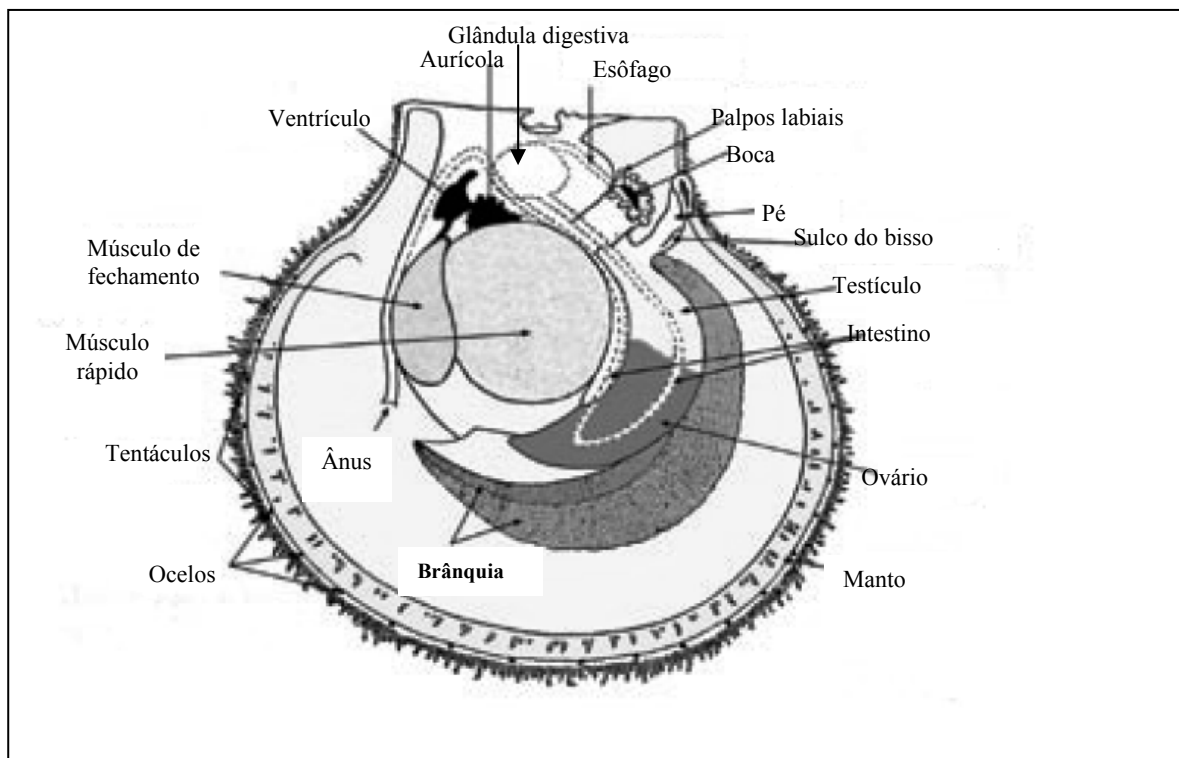


**Figura 03.** Valvas da vieira *Patinopecten yessoensis*. A) Valva esquerda, em visão externa, exibindo costelas radiais e umbo em destaque; B) Valva direita em visão interna, exibindo cicatriz única do músculo adutor, umbo em destaque. Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Pyesso/en>

### 2.1.3 Morfofisiologia.

Bivalvos não apresentam cabeça como os demais moluscos, perderam rádula, tentáculos e olhos provavelmente em função do estilo de vida sésil ou sedentário (LEAL, 2006). Toda sua massa corpórea fica compreendida, e protegida, no interior das valvas, exceto expansões táteis do manto em pectinídeos e ostras.

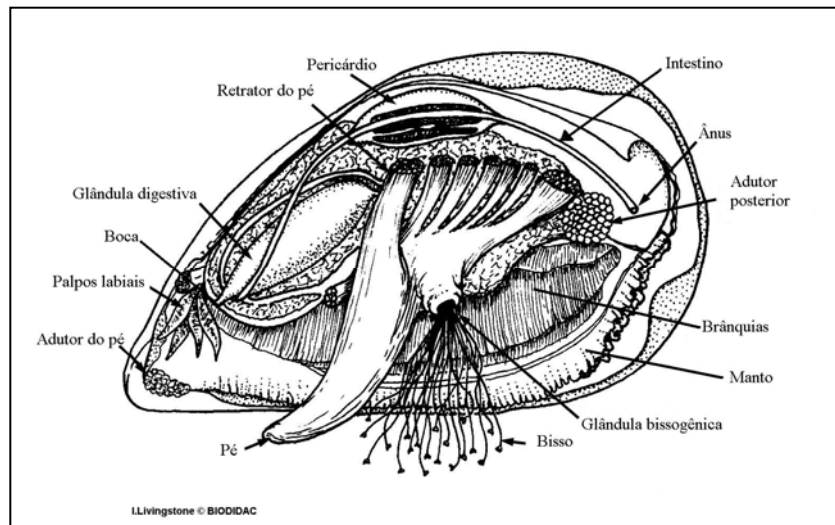
O manto é um tecido que reveste toda a valva internamente (exceto nas regiões onde o músculo adere à concha); também é responsável pela segregação de carbonato de cálcio que compõe a valva. Nos pectinídeos os tentáculos formados a partir de expansões do manto possuem pequenos ocelos azuis, estruturas capazes de detectar luz e movimento (importantes para localizar a zona fótica e possíveis predadores). Nos mitilídeos os bordos do manto se unem para formar os sífões inalante (por onde a água entra com oxigênio e alimento) e exalante (saída de água com fezes e pseudofezes).



**Figura 04.** Anatomia interna de um pectinídeo *Argopecten gibbus*. Mostrando sistemas digestivo, muscular, reprodutivo e respiratório. Adaptado de Helm; Bourn (2006).

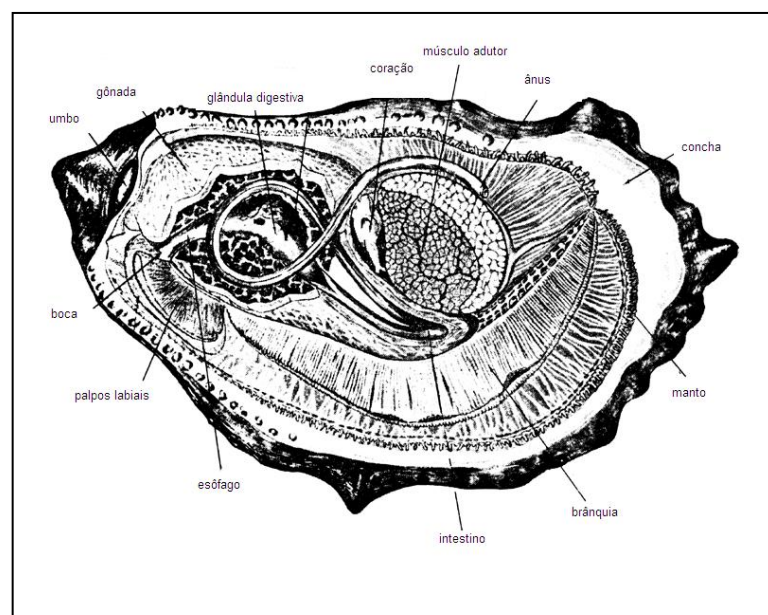
A respiração é realizada por um par de brânquias de estrutura laminar (cada par de demibrânquias faz uma lamela branquial) que possuem células ciliadas. Localizam-se dentro das valvas logo após o manto e entre elas encontra-se a massa visceral. O batimento dos cílios gera uma corrente de água dentro do animal enquanto revestem de muco partículas de alimento (microalgas e matéria orgânica particulada). Na porção anterior das brânquias localizam-se dois pares de palpos labiais. Assim que o alimento filtrado nas brânquias chega até a boca do animal os palpos labiais selecionam por tamanho o que pode ser ingerido. O que for grande demais será eliminado como pseudofezes (BENINGER; ST-JAMES, 1997).

Possuem trato digestivo completo com boca, esôfago curto, glândula digestiva, estilete cristalino, intestino e ânus (Figuras 04, 05 e 06). No estilete há uma camada de mucoproteínas que liberam enzimas para a digestão dos alimentos, reduzindo amido à açúcares.



**Figura 05.** Anatomia interna de um mitilídeo *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 fecundação é externa, com indivíduos apresentando sexos separados em Mytiloidea: machos apresentam gônadas com coloração branca ou creme e as fêmeas vermelho-alaranjado. Ostreoida também possui sexos separados, a gônada somente pode ser vista durante o período de reprodução e não se distingue visualmente entre os sexos; os indivíduos são hermafroditas seqüenciais em *Crassostrea*, ou seja, sua primeira desova é como macho e na próxima como fêmea (protandria). Em *Ostrea* os animais são larvíparos. Os principais pectinídeos de interesse comercial, como *Nodipecten nodosus*, são hermafroditas verdadeiros apresentando em um mesmo indivíduo gônada feminina (de cor alaranjada) e masculina (de coloração branca) (Figura 04).



**Figura 06.** Anatomia interna de uma ostra, *Ostrea edulis*. Tubo digestivo completo, sistema respiratório (brânquias) e fluxo de água. Adaptada de [content.cdlib.org/xtf/data/13030/n3/kt629004n3/figures/caljsiol\\_sio1c](http://content.cdlib.org/xtf/data/13030/n3/kt629004n3/figures/caljsiol_sio1c)

A desova geralmente é induzida por temperatura ou estresse ambiental. A gametogênese em bivalvos depende de vários fatores: tamanho do animal, temperatura da água e do alimento (HELM; BOURN, 2006). Várias espécies de pectinídeos podem acumular reservas no músculo e na glândula digestiva e posteriormente utilizá-la na maturação dos gametas (LODEIROS et alli, 2001). Durante a maturação dos gametas algumas espécies apresentam maior necessidade de uma dieta alimentar rica em lipídeos polinsaturados, fundamentais para uma boa produção de gametas e de larvas de qualidade (DUINKER et alli, 2004), pois o tecido gonádico é essencialmente lipídico.

O sistema muscular controla batimentos cardíacos, movimento de fechamento das valvas (a abertura é mediada por ligamento, em mexilhões e ostras, ou pelo resilium em vieiras) e pequenos deslocamentos (em mexilhões e vieiras). Encontramos espécies monomiárias (um único músculo adutor localizado no centro da valva) em Ostreoida e Pteroida, e dimiárias em Mytiloida (músculo adutor, retrator do pé, retrator anterior, retrator mediano e retrator posterior do bisso).

O pé também possui natureza muscular, apresentando um sulco longitudinal ao longo do qual escorre a proteína que se solidifica e dá origem aos filamentos do bisso (produzido por uma glândula bissogênica localizada na base do pé). Essa estrutura se forma durante o final da fase larvar (pedivéliger) e atua fundamentalmente quando a larva sofre a metamorfose abandonando a vida livre planctônica para procurar um substrato bentônico. Ostras possuem pé rudimentar, ativo apenas no final da fase larvar: assim que sofrem metamorfose cimentam-se definitivamente ao substrato e o órgão perde sua função (POLI, 2004).

Arrastando-se por intermédio do pé o plantígrado (*spat*) busca o ambiente com melhores condições para se fixar: inicialmente em um substrato macio (biofilme de microalgas filamentosas – fixação primária) e posteriormente sobre substrato consolidado (fixação definitiva, no caso dos mexilhões) (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004).

O sistema circulatório dos bivalvos é constituído pelo coração (pericárdio, composto por duas aurículas e um ventrículo) localizado dorsalmente, um conjunto de artérias e veias por onde circula o sangue, denominado hemolinfa. O pigmento responsável pelo transporte dos gases é a hemocianina, proteína cujo centro ativo é uma molécula de cobre, fazendo com que a hemolinfa não apresente coloração. O pericárdio impulsiona a hemolinfa rica em oxigênio, em batimentos irregulares, à partir do ventrículo através dos sistemas de artérias até a cavidade denominada seios. Nessa cavidade a hemolinfa se espalha para toda a massa corpórea dos animais, constituindo assim um sistema circulatório aberto. Ao retornar dos órgãos a hemolinfa volta ao seio, flui pelas veias passando pelo rim e pelas brânquias (para a retirada dos excretas celulares e do CO<sub>2</sub>) e finalmente penetra no coração através das duas aurículas (BARRACCO; DA SILVA, 2008).

A hemolinfa é constituída basicamente por hemócitos de diferente natureza, com presença de grânulos citoplasmáticos (granulócitos) e sem grânulos (hialinócitos). Tais células desempenham variadas funções: reparo das valvas, transporte e digestão de nutrientes e também o fundamental papel de atuar na defesa imunológica do bivalvo frente à micropatógenos (bactérias, fungos, protozoários e microalgas) e à substâncias nocivas presentes na água. Pectinídeos não apresentam granulócitos (CARBALLAL et alli, 1997).

Assim como os demais invertebrados, bivalvos possuem apenas o sistema imune inato e natural, não apresentando o sistema adaptativo como os vertebrados. As células presentes na hemolinfa e/ou variadas substâncias por elas produzidas (PAM's -peptídeos de ação antimicrobiana, como *defensinas*, *mitilinas* e *miticinas*; ERO's - espécies reativas de oxigênio, como superóxidos, peróxido de hidrogênio) constituem as principais defesas do organismo e atuam modulando respostas inflamatórias, citotóxicas e fagocíticas. A atividade dos hemócitos pode ser verificada pela presença de enzimas hidrolíticas (principalmente lisozima) ou variadas moléculas tóxicas transitórias (ERO's) que atuam sobre o patógeno, após este ter

sido fagocitado ou encapsulado. A ação conjugada destes fatores objetiva levar o patógeno à morte por processo oxidativo, denominado ‘choque respiratório’ (ROCH, 1999. BARRACCO; DA SILVA, *op cit.*).

#### **2.1.4 Bioecologia.**

Moluscos bivalves adultos são animais que vivem no domínio bentônico, estendendo sua ocorrência desde a região entremarés até o infralitoral dependendo da espécie. Podem ser sésseis, ou seja, viver fixados ao fundo (como mexilhões e ostras) ou vágeis, como as vieiras que podem se deslocar (HELM; BOURN, 2006).

Durante a fase de desenvolvimento larvar bivalvos habitam o domínio planctônico como organismos meroplanctônicos. Esse estágio geralmente dura cerca de um mês, podendo ser abreviado ou estendido em função da temperatura do meio ambiente. Após a fertilização em poucas horas o zigoto torna-se uma larva trocófora, livre natante; em seguida desenvolve-se o vélum (estrutura responsável pela respiração e alimentação da larva) e a concha rudimentar (sem umbo) - a larva véliger. Posteriormente desenvolvem-se as brânquias, o pé – larva pedivéliger. O último passo relaciona-se à metamorfose para que o animal possa habitar o domínio bentônico e relaciona-se à procura pelo substrato mais adequado para a fixação (HELM; BOURN, *op cit.*).

Habitam águas costeiras, desde ambientes estuarinos, como a ostra *Crassostrea rhizophorae*, até tipicamente oceânicos como o mexilhão *Perna perna*. Em relação à distribuição biogeográfica o gênero *Mytilus* encontra-se em zonas temperadas em todo o globo e *Perna* em ambientes tropicais, principalmente no hemisfério sul (WOOD et alli, 2007). Vieiras também podem ser encontradas desde regiões polares à ambientes tropicais, da zona intermarés à profundidades de 7000 metros (MINCHIN, 2003).

Todos os bivalves alimentam-se de organismos planctônicos disponíveis em suspensão na coluna d’água: microalgas (OGILVIE et alli, 2000), bactérias, mesozooplâncton (ZELDISE et alli, 2004); mas também de matéria orgânica particulada (MOP). Podem filtrar muitos litros de água do mar por hora dependendo de fatores bióticos (espécie de molusco, tamanho, estado fisiológico, quantidade de alimento disponível, presença de toxinas) e abióticos (principalmente temperatura e salinidade) (REGALLA-JR. et alli, 2007).

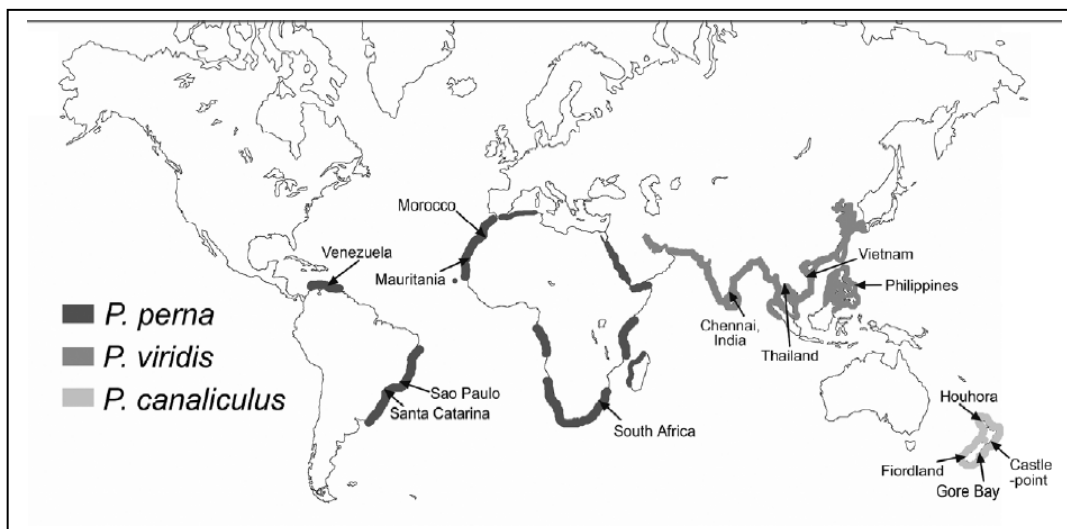
Moluscos bivalves relacionam-se ecologicamente com organismos bentônicos, planctônicos e nectônicos. Predam principalmente organismos fitoplanctônicos (herbivoria) e competem por esse recurso com os demais animais filtradores: cracas, ascídeas, outros bivalvos, briozoários, esponjas, entre outros. Porém Alfaro (2006) relata evidência de canibalismo para *Perna viridis*, onde animais adultos em ambiente natural continham em seu conteúdo estomacal estádios larvais de sua própria espécie (relação ecológica negativa intraespecífica).

No bentos, bancos naturais de mexilhões fornecem substrato para fixação de inúmeros invertebrados e macroalgas (espaço secundário). No entanto, cracas e macroalgas são os principais competidores por espaço (ERLANDSSON et alli, 2005). Bivalvos frequentemente são predados por equinodermos (NORBERG; TEDENGREN, 1995), peixes, polvos e platelmintos (O’CONNOR; NEWMANN, 2003). Outro importante predador são os moluscos gastrópodos *Thais haemastoma* e *Cymatium parthenopeum* principalmente em cultivos de mexilhões (FERREIRA; MASGALHÃES, 2004).



#### 2.1.4.1 *Perna perna* (Linnaeus 1758)

O gênero *Perna* (Philipsson 1788) possui apenas três espécies, todas amplamente utilizadas na alimentação humana, quer extraídas de bancos naturais ou cultivadas: *P. perna* (no oceano Atlântico), *P. viridis* (Indopacífico) e *P. canaliculus* (Nova Zelândia). Uma quarta espécie *P. picta* demonstrou, quando submetida à análise filogenética, ser uma variação intraespecífica de *P. perna* e não uma espécie distinta (WOOD et alli, 2007).



**Figura 07.** Distribuição geográfica de mexilhões do gênero *Perna*. Extraída de WOOD et alli, 2007. Setas indicam local de amostragem do trabalho referenciado.

É o mitilídeo que atinge o maior tamanho no litoral brasileiro, o maior espécime relatado foi encontrado no litoral de Santa Catarina e media 18,2cm de comprimento, as demais espécies do gênero medem de 10-15cm. Mitilídeos podem viver até 9 anos em ambientes naturais, mas após o sexto ano a taxa de crescimento reduz-se drasticamente e aumenta o percentual de mortalidade (SUKHOTIN; PÖRTNER, 2001).

Encontra-se amplamente distribuído no Oceano Atlântico sul, nas costas da África Ocidental (penetrando um pouco ao sul do Mar Mediterrâneo) e leste da América do Sul. Fixa-se exclusivamente em substratos duros, naturais ou não, horizontais ou levemente inclinados em área sujeita à moderada ação hidrodinâmica. Ocorre desde a região do médiolitoral até a isóbata de 10 metros. Por ser bem adaptado para sobreviver às oscilações da maré (suas valvas fechadas retêm água com oxigênio suficiente até a subida da maré), forma populações muito densas nessa região, com até 20000 animais.m<sup>2</sup> (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004).

Devido, via de regra, ser abundante *P. perna* é considerada uma espécie importante na riqueza de comunidades bentônicas, pois atua modificando a natureza e a complexidade do substrato. Sua abundância apresentou correlação positiva com a riqueza de macrofauna bentônica, conforme relatado por Borthagaray; Carranza (2007).

Considera-se *P. perna* como organismo euribionte: tolera salinidade com amplitudes de 19 à 49 e temperaturas de 5-30°C. Porém, o ótimo para seu desenvolvimento encontra-se entre 34-36 de salinidade e 21-28°C de temperatura.

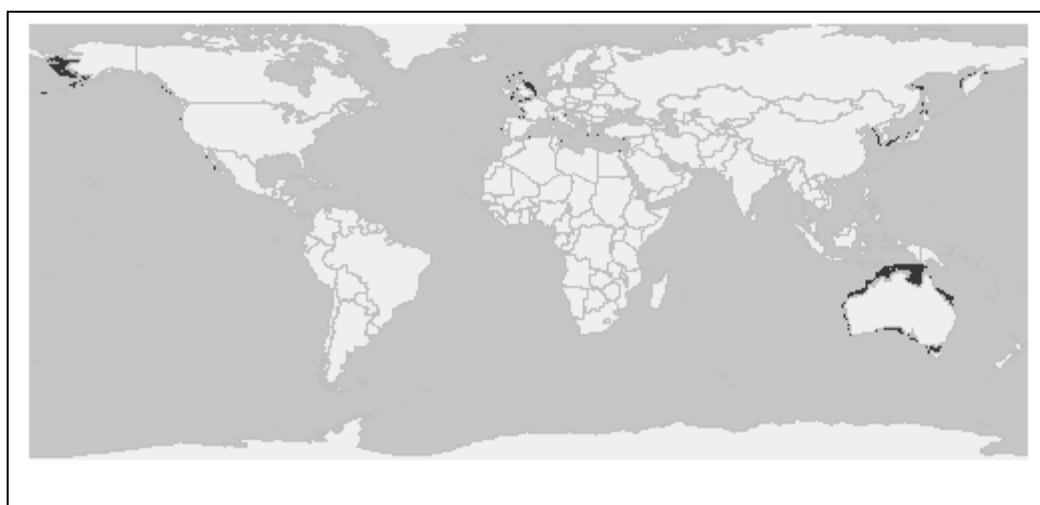
Em experimentos laboratoriais (inteiramente controlados) Resgalla-Jr. et alli (2007) testaram a influência de variáveis bióticas e abióticas na fisiocologia de para *P. perna*. Concluíram que o principal fator a afetar diretamente a capacidade respiratória foi a temperatura e para a eficiência na absorção de alimento foi a concentração de seston (total de material orgânico particulado vivo e não vivo). Dessa forma as menores taxas de crescimento

foram encontradas no verão, onde ocorria grande desgaste metabólico devido às temperaturas mais altas.

#### 2.1.4.2 *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) (FAO, 2008)

Espécie nativa da região do oceano Pacífico, que atualmente apresenta ampla distribuição geográfica (Figura 08). Em ambiente natural pode ser encontrada da região intertidal à 40 metros de profundidade, preferencialmente cimentada em substratos consolidados (rochas ou sobre outros bivalvos).

Foi introduzida na costa oeste da América do Norte (do Alaska à Califórnia), na Europa e também na América do Sul (Brasil, Equador, Argentina, Chile). Por seu crescimento rápido era a espécie de ostra eleita para cultivo quando uma espécie nativa apresentava declínio na produção; por exemplo, na costa da França veio substituir a produção da nativa *Ostrea edulis*, dizimada por doenças (POLI, 2004).



**Figura 08.** Distribuição geográfica da ostra *Crassostrea gigas*. Adaptado de documento da Internet FAO (2008) e disponível em <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cgigas/en>

Apresentam comprimento médio de 8-15cm, com tamanho máximo de 30cm. A espécie apresenta grande plasticidade ambiental, tornando possível seu cultivo em diversos ambientes. Seu cultivo secular originou-se no Japão e começou a se espalhar na década de 20 (América do Norte) e 60 (Europa).

As condições ótimas para seu desenvolvimento encontram-se entre 20-25 de salinidade e 15-22°C de temperatura. Pode atingir o tamanho comercial entre 18-30 meses de cultivo, dependendo da disponibilidade de alimento da região.

#### 2.1.4.3 *Nodipecten nodosus* (Linnaeus 1758)

Dentre as espécies de bivalvos cultivados as vieiras são as que atingem maiores preços no mercado (aproximadamente U\$\$ 2 bilhões gerados em 2004), embora em volume de produção apresentem menor expressão, é 12ª família mais cultivada (FAO, 2006). As espécies mais cultivadas são: *Argopecten irradians*, *A. purpuratus*, *Patinopecten yessoensis* e *Pecten maximus*. No Brasil cultiva-se a espécie nativa *Nodipecten nodosus*, que é endêmica do Oceano Atlântico e ocorre do mar do Caribe até o litoral de Santa Catarina (MINCHIN, 2003).

Rupp e Parsons (2004) relatam que a espécie é moderadamente euritérmica (suporta entre 16-28°C) e estenoalina, não suportando salinidades inferiores à 30. O indivíduo adulto é menos tolerante às variações de temperatura e salinidade que as larvas e juvenis.

Pode ser encontrada de 10-100 metros de profundidade habitando substratos consolidados. Atinge comprimento máximo de 15cm, sendo o tamanho comercial de 5-6cm.

Essa espécie não suporta uma atividade extrativa intensa, pois naturalmente não forma populações numerosas. Em função dessa característica biológica houve a necessidade de realizar a reprodução da espécie em laboratório (larvicultura), com desenvolvimento de tecnologia para produção em massa de sementes, e assim suprir a demanda por estes animais em cultivo (VELASCO et alli, 2007).

*N. nodosus* reproduz-se naturalmente uma vez ao ano (geralmente entre outubro e março), atingindo a maturidade sexual aos 6 meses. Mas, para a produção de sementes em escala industrial há a necessidade de induzir a desova: por temperatura, estresse físico ou com uso de hormônios (VELASCO; BARROS, 2007).

Em laboratório as matrizes (animais adultos maturos sexualmente, mas com gônadas vazias) são submetidos à gradual elevação na temperatura e recebem alimentação rica em ácidos graxos (composição de variadas microalgas ou microalgas mais emulsão). Sob essas condições o animal pode tornar-se maturo em 77 dias. No entanto em ambiente natural o desenvolvimento gonadal acontece mais rapidamente, embora as condições nutricionais sejam adversas (VELASCO; BARROS, *op cit.*). Tal fato é aparentemente contraditório, uma vez que a formação de gametas requer gasto energético. Porém *N. nodosus* apresenta a capacidade de utilizar estoques energéticos localizados em sua glândula digestiva e em seu músculo adutor, redirecionando as substâncias de reserva (carboidratos) para a gametogênese (LODEIROS et alli, 2001).

No litoral do Rio de Janeiro a espécie teve sua população extremamente reduzida, devido à captura indiscriminada. Atualmente o Projeto POMAR, do Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía de Ilha Grande, além de produzir sementes para a maricultura, abastecendo vários estados brasileiros, também atua no repovoamento de *N. nodosus* no litoral sul-fluminense (ZAGANELLI comunicação pessoal<sup>1</sup>). O projeto POMAR também desempenha a importante função de fomento à pesquisa ao doar sementes para experimentos, por exemplo, para o laboratório ToxMar da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

### **2.1.5 Uso de bivalvos como bioindicadores ambientais e sanitários**

Várias características são necessárias em um organismo para permitir seu uso como bioindicador: ser sésil e apresentar ampla distribuição (BARRACCO; DA SILVA, 2008), ser abundante na região estudada e ser capaz de bioacumular o toxicante em questão (SHEEHAM; POWER, 1999), além de não ser sensível aos efeitos agudos da substância que se quer estudar.

Seu hábito filtrador faz com que bivalvos sejam excelentes bioindicadores, ou organismos sentinelas, para a presença de patógenos ou de substâncias tóxicas (em fase dissolvida ou adsorvida em partículas orgânicas) presentes na coluna d'água (DUCHEMIN et alli, 2008). Mexilhões, por exemplo, podem bioacumular em sua massa corpórea tais substâncias e micropatógenos de 100 à 1000 vezes a concentração presente na água de cultivo (SHEEHAM; POWER *op cit.* FERREIRA; MAGALHÃES, 2004).

Por exemplo, bactérias colonizam MOP e aí se multiplicam; além disso, a constituição bioquímica dos tecidos dos moluscos atua como um verdadeiro meio de cultura apresentando substratos necessários ao desenvolvimento microbiano.

Na utilização de moluscos como bioindicadores tanto se pode utilizar o animal como um todo (massa corpórea) ou um determinado tecido ou órgão. Por exemplo, para a detecção de toxinas paralisantes utiliza-se toda a massa corpórea do animal e para toxinas diarréicas apenas a glândula digestiva (VAN EGMOND et alii, 2004). Essa escolha deve ser realizada

---

<sup>1</sup> José Luiz Zaganelli. Coordenador do projeto POMAR (Instituto de Ecodesenvolvimento da Baía de Ilha Grande). Em 06 de outubro de 2008.

em função da composição bioquímica do tecido do animal e das características físico-químicas da substância que se quer detectar, principalmente a solubilidade do toxicante em questão (AZEVEDO; LIMA, 2003): substâncias lipossolúveis bioacumulam-se principalmente em glândula digestiva e gônadas e as hidrossolúveis por todos os tecidos.

A composição bioquímica dos tecidos do animal varia principalmente segundo a disponibilidade de alimento e a época do ano (por causa da temperatura). Mesmo assim a glândula digestiva é o órgão com maior percentual de lipídeos, seguido pelas gônadas; os maiores percentuais de proteínas encontram-se no tecido muscular. As gônadas apresentam maior variação sazonal na sua composição bioquímica, em função do ciclo reprodutivo dos animais. Já os tecidos musculares não apresentam variação, sempre mantendo altos percentuais de proteínas. Porém *N. nodosus* apresenta estoque de carboidratos no músculo adutor no período que antecede a gametogênese (LODEIROS et alii, 2001).

Realiza-se a escolha do tecido para análise do toxicante em função das características da toxicocinética da substância em questão no animal. Por exemplo, Yap et alii (2006) recomendam a utilização do estilete cristalino de mitilídeos para o estudo da concentração de cobre e chumbo, uma vez que estes metais possuem alta afinidade por esse órgão. Já para o zinco não houve diferença na concentração para os diferentes tecidos em *P. viridis*.

No caso das ficotoxinas as lipossolúveis (toxinas diarréicas, neurotóxicas, azaspirácidas e ciguatéricas) apresentam maior afinidade por tecidos com maiores percentuais lipídicos: glândula digestiva e gônadas. As hidrossolúveis (toxinas paralisantes e amnésicas) poderão estar presentes em todos os tecidos (VAN EGMOND et alii, 2004).

Em experimento com vieiras (*Argopecten irradians*), alimentados com cepas toxígenas de *Prorocentrum lima*, o AO foi a principal toxina produzida e 76% do total das toxinas diarréicas presentes foram encontradas na glândula digestiva do molusco (BAUDER et alii, 1996), certificando assim o uso deste órgão para o processo de extração da toxina. Também para o mexilhão *Mytilus galloprovincialis* as toxinas diarréicas ácido okadaico e dinophysistoxina-1 não apresentaram acúmulo significativos em tecidos não viscerais (BLANCO et alii, 2007a). Para as espécies de bivalvos nativas (*P. perna* e *N. nodosus*) ainda não há dados disponíveis acerca da toxicocinética de ficotoxinas.

A bioacumulação da ficotoxina ácido okadaico em diferentes moluscos bivalvos e em outros organismos filtradores (como ascídeas e poliquetos) foi estudada por Reizoupoulou et alii (2008) durante dois surtos de DSP na Grécia. Foi reiterado que mitilídeos apresentam maior taxa de bioacumulação do AO, frente à outras espécies de bivalvos, ratificando sua utilização como bioindicador desta ficotoxina.

Em relação às toxinas diarréicas em moluscos outros fatores devem ser levados em consideração: mecanismos naturais de biotransformação, que tanto podem reduzir (detoxificação) ou aumentar a toxicidade de uma substância. A ação de enzimas digestivas em muitas espécies de molusco ao invés de inativarem o ácido okadaico e as dinophysistoxinas 1 e 2 acabam por biotransformá-las em uma outra toxina, a dinophysistoxina-3. Por exemplo, na vieira *Patinopecten yessoensis* e no mexilhão *Mytilus galloprovincialis* foi detectada a presença de DTX-3 durante uma floração de *Dinophysis fortii* que expressava apenas a produção de DTX-1 (SUZUKI; MITSUYA, 2001). Tal ficotoxina até o presente momento não foi detectada em amostra de fitoplâncton e o mecanismo de sua biossíntese já foi parcialmente elucidado (FAO, 2004).

A distribuição anatômica das ficotoxinas nos diferentes tecidos/órgãos dos bivalvos também apresenta implicação direta na capacidade de depuração apresentada pelos animais. Toxinas bioacumuladas na glândula digestiva são mais facilmente eliminadas que as encontradas nos demais tecidos, por exemplo, como encontrado por Suzuki et alii (2005) para diferentes toxinas diarréicas na vieira *Patinopecten yessoensis*.

Dessa forma o conhecimento da cinética das ficotoxinas nas diferentes espécies de bivalvos e também nas espécies fitoplanctônicas potencialmente tóxicas (e suas variações espaciais e temporais) perfaz o conjunto mínimo de informações necessárias para avaliar a qualidade higiênico-sanitárias dos bivalvos, sob a perspectiva das ficotoxinas. A Comissão Oceanográfica Intergovernamental (COI/UNESCO) recomenda considerar como altamente perigoso à saúde pública o consumo de bivalvos extraídos ou produzidos de áreas sem o devido monitoramento sanitário (REGUERA, 2002).

## 2.2 Malacocultura

O crescimento de moluscos bivalvos é reflexo de um balanço entre o ganho de energia através da alimentação e seu gasto (metabolismo interno). Quando esse balanço tende ao crescimento (é positivo) a energia é empregada no crescimento somático (formação de massa corpórea) e posteriormente na maturação gonadal (gametogênese). Tal situação ocorre quando o animal encontra-se em um contexto ambiental equilibrado, onde variáveis abióticas (principalmente a temperatura) e bióticas (quantidade e qualidade do alimento) encontram-se dentro do ótimo para o desenvolvimento do molusco. Em situações ambientais adversas o gasto metabólico reduz drasticamente as taxas de crescimento (RESGALLA-JR et alli, 2007).

Dessa forma para otimizar o crescimento e ganho de peso do animal deve-se atentar para a correta escolha do local onde se instalará o cultivo e da espécie a ser criada, o tipo de estrutura a ser utilizado e a densidade correta de animais, respeitando a capacidade de suporte do ambiente (LAING; SPENCER, 1997). Bivalvos podem ser cultivados em sistemas suspensos (principalmente espinhel ou balsa), que garantem melhor acesso ao alimento disponível na coluna d'água, ou em estruturas sobre o fundo marinho (MENDOZA et alli, 2003). No Brasil emprega-se principalmente o sistema de espinhel, onde mexilhões são dispostos em cordas e vieiras e ostras em lanternas (Figura 09).



**Figura 09.** Fazenda Marinha da Associação de Maricultores de Mangaratiba, RJ. A) Sistema de cultivo suspenso, denominado espinhel, em vista panorâmica. Bombonas brancas e azuis constituem o sistema de flutuação do espinhel. Ao longo do cabo mestre (submerso assinalado com seta) ficam dispostas as cordas de mexilhões (B) e as lanternas com vieiras e ostras (C). Fotos da autora, exceto item c) FIPERJ.

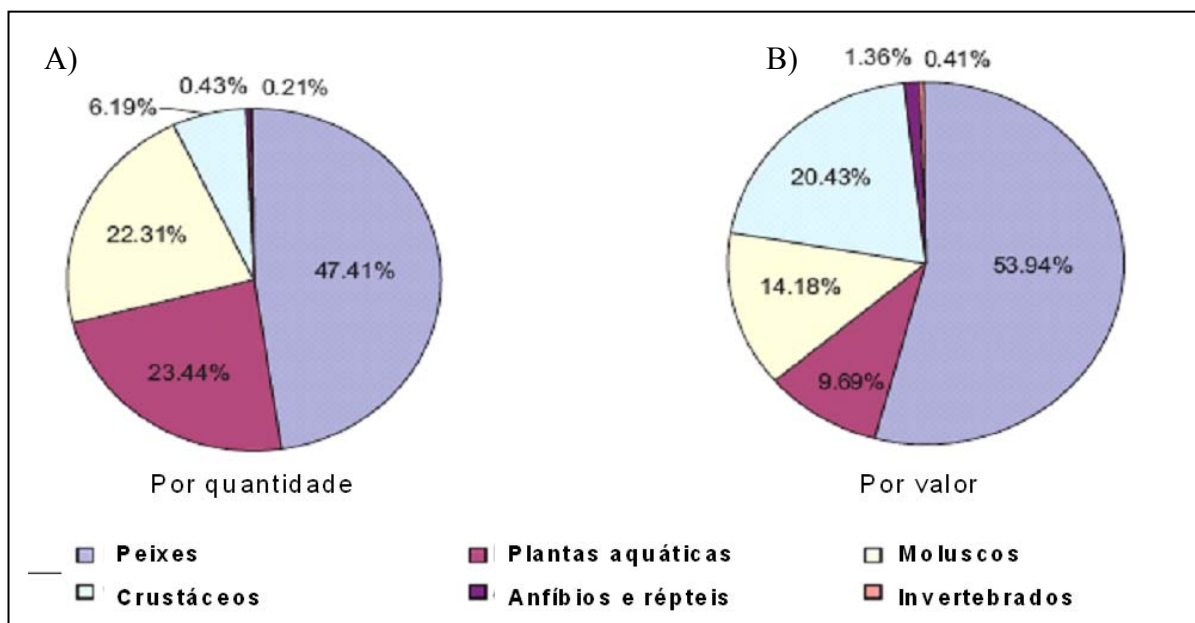
O aproveitamento da carne dos animais varia segundo a espécie e as exigências do mercado consumidor. Mexilhões e ostras geralmente são consumidos inteiros enquanto que

das vieiras consomem-se apenas o músculo adutor ou este acompanhado das gônadas (FAO, 2006). O peso da massa corpórea de bivalvos é altamente influenciado pela maturação gonadal: daí a importância de conhecer os períodos de desova para retirar os animais antes que liberem seus gametas, maximizando assim a produtividade da fazenda marinha. Essa variação na massa corpórea pode ser mensurada através do cálculo do Índice de Condição, que é modulado pelo ciclo reprodutivo dos animais (LI et alli, 2008; ORBAN t alli, 2002; LODEIROS et alli, 2001;).

Na última revisão realizada pela Organização para Alimentos e Agricultura da UNESCO -Food and Agriculture Organization- acerca do estado da arte da aquicultura mundial (FAO, 2006a) moluscos bivalvos ocupavam a terceira colocação tanto no volume de produção (com 22,31% dos 60 milhões de toneladas produzidos) quanto no de valores gerados pela aquicultura (14,18% dos U\$ 70 bilhões) considerando-se os grandes grupos de organismos cultivados (Figura 10).

Segundo o banco de dados estatísticos pesqueiros e aquícolas da FAO (2008) as espécies mais cultivadas são a ostra do Pacífico (*Crassostrea gigas*), mexilhões (principalmente *Mytilus edulis*) e pectínídeos (principalmente *Patinopecten yessoensis*). A China é o maior produtor mundial de moluscos bivalvos.

A FAO realiza regularmente relatórios sobre a pesca e a aquicultura no mundo, revelando que a cultura de ostras continua apresentando tendência de crescimento (3,1%, no período de 2002 para 2004), o mesmo para produção de mexilhões (4,6% de crescimento para o mesmo período). Somente o cultivo de vieiras apresentou decréscimo na produção de 2,6% (FAO, 2006b).



**Figura 10.** Percentual dos grandes grupos da produção aquícola mundial. A) Por quantidade, dos 60 milhões de toneladas produzidos; B) Por valor, dos U\$ 70 bilhões gerados. Modificado de FAO, 2006a.

Mitilicultura é outra denominação empregada ao cultivo de mexilhões. Conforme supracitado a China é o maior produtor mundial de mexilhões (*M. edulis* e *Perna viridis*). No entanto para *P. perna* o Brasil é o maior produtor, sendo a espécie também cultivada na Venezuela. Os demais integrantes do gênero *Perna* são cultivados na Nova Zelândia (*P. canaliculus*) e em países do sudeste asiático (*P. viridis*) (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004). A mitilicultura como atividade comercial iniciou-se em Santa Catarina, na década de 90 (DIEGUES, 2006). E em 1995 no litoral sul do Rio de Janeiro em escala experimental na baía

de Ilha Grande (BASTOS et alli). Atualmente Santa Catarina é o maior produtor nacional, seguido por São Paulo, Espírito Santo e Rio de Janeiro (IBAMA, 2008).

O cultivo de pectínídeos também recebe o nome de pectinicultura. A espécie mais cultivada é *Patinopecten yessoensis*, seguida por *Argopecten irradians* (Na China e EUA), *A. purpuratus* e *Pecten maximus* (na Europa, segundo Le Pennec et alli, 2003).

Porém, na América Latina e Caribe a espécie mais cultivada é *Nodipecten nodosus*. No Brasil, produzindo em escala comercial temos o Rio de Janeiro como primeiro produtor nacional de vieiras (ARAÚJO, 2007), seguido por Santa Catarina (ALBUQUERQUE; FERREIRA, 2006). Os animais são criados principalmente em estruturas chamadas gaiolas (Figura 09, item C), cujo tamanho de malha e densidade de animais por piso variam segundo o tamanho do animal.

Na Venezuela, em cultivo experimental, temos *N. nodosus* e *Pecten ziczac* (VELEZ et alli, 1995; LODEIROS et alli, 1998) e na Colômbia juntamente com *A. nucleus* (VELASCO, 2007). No Brasil ainda existem mais duas espécies com potencial para cultivo: *P. ziczac* e *Mimachlamys* spp. Cujo processo de produção de sementes (larvicultura) encontra-se em desenvolvimento na Universidade Federal de Santa Catarina e no IEDBIG/RJ.

### **2.3. Ficotoxinas Diarréicas**

#### **2.3.1 Ficotoxinas: produtos naturais marinhos**

O fitoplâncton é composto, aproximadamente, por mais de 15000 espécies, entre diatomáceas, dinoflagelados, clorofíceas, coccolitoforídeos, criptofíceas e silicoflagelados segundo GUILLARD; KILHAM (1997) apud STOERMER ; IMOL (1999), VAULOT (2001) e BONECKER et alli, (2002).

No ambiente marinho há relatos de cerca de 5000 espécies de microalgas, cerca de 300 são capazes de produzir florações intensas (DARANAS et alli, 2001), mas apenas 89 encontram-se listadas como potencialmente nocivas pela COI/UNESCO (MOESTRUP, 2004). Destas microalgas potencialmente nocivas 13 espécies pertencem ao gênero *Prorocentrum* (ELBRÄCHTER; FAUST, 2004) e 11 ao gênero *Dinophysis* (ZINGONE, 2004), envolvidos na produção de toxinas diarréicas e/ou ictiotoxinas (Quadro 01). Recentemente foi relatada a expressão do potencial tóxico de mais uma espécie da ordem Dinophysiales: *Dinophysis ovum*, ainda não incluída na lista da Comissão Oceanográfica Intergovernamental (RAHO et alli, 2008).

O principal efeito nocivo apresentado por essas microalgas é o seu potencial para a produção de substâncias biologicamente ativas (MOESTRUP, 2004). Tais substâncias são denominadas ficotoxinas, quando exercem seu efeito tóxico em humanos, principalmente, e demais mamíferos, e ictiotoxinas quando seu efeito nocivo atua sobre peixes e invertebrados marinhos (DARANAS et alli, 2001). Portanto tais toxinas são consideradas como produtos naturais marinhos (BLUNDEN, 2001).

As ficotoxinas não desempenham nenhuma função vital para o organismo que a produz. São moléculas orgânicas complexas, de alto peso molecular e sua síntese requer gasto energético. Por vários anos pesquisadores questionaram esse aparente paradoxo: por que gastar energia em algo que não é essencial ao metabolismo celular? Descobriu-se que sua síntese ocorre por um desvio de uma rota metabólica primária ou por uma via relíquia, caracterizando-as como um metabólito secundário (CEMBELLA; WRIGHT, 1996).

Várias hipóteses foram formuladas para explicar a produção de compostos tão complexos e de síntese intrincada. Essas substâncias poderiam atuar funcionalmente como defesa química (alelopatia), reserva intracelular de nutrientes, indução de reprodução sexuada, proteção contra herbivoria, apresentando assim uma função ecológica (GEOHAB, 1998).

Legrand et alli (2003) revisaram a definição e função da alelopatia no contexto marinho e formularam hipótese de sua aplicabilidade para organismos fitoplanctônicos, uma

vez que para plantas terrestres a alelopátia é compreendida e amplamente documentada. No ambiente marinho a alelopátia tem sido considerada como uma adaptação evolucionária, um mecanismo para obtenção de vantagens na competição por recursos entre organismos fitoplanctônicos. Foram citadas como principais consequências da ação de alelopáticos na comunidade fitoplanctônica a inibição da fotossíntese, redução nas taxas de crescimento, inibição da herbivoria e indução da formação de cistos de resistência.

Por exemplo, a ficotoxina diarréica ácido okadaico apresentou a capacidade de inibir o crescimento da diatomácea *Thalassiosira weissflogii* (uma competidora por nutrientes), em situação experimental (WINDUST et alli, 1997; HU et alli, 1999; HAY; KUBANEK, 2002). Assim como o AO a dinophysistoxina-1 também apresentou a capacidade de inibir o crescimento de *T. weissflogii*, *Dunaliella salina*, *D. tertiolecta* e *Amphidinium carterae* (WINDUST et alli, 1996). Compostos alelopáticos produzidos pelo dinoflagelado *Karenia brevis* (potencial produtor de toxinas neurotóxicas) durante floração inibiram o crescimento das espécies acompanhantes *Prorocentrum minimum*, *Asterionellopsis glacialis* e *Skeletonema costatum* seus competidores em ambiente natural (PRINCE; MYERS, 2008). Em experimento realizado com *Alexandrium tamarense* (produtor de toxinas paralisantes), *T. weissflogii* e *Rhodomonas* spp., mesmo na ausência da produção de toxinas paralisantes, as células da diatomácea e da criptofíceia sofreram lise indicando a produção de exudatos alelopáticos por *A. tamarense* (FISTAROL et alli, 2004).

**Quadro 01.** Lista das microalgas potencialmente tóxicas envolvidas no Envenenamento Diarréico por Moluscos e suas substâncias bioativas. AO: ácido okadaico; DTX's: dinophysistoxinas; PTX's: pectenotoxinas.

Microalga	Efeito nocivo	Toxina diarréica	Ictiotoxina
<b><i>Prorocentrum</i></b>			
<i>P. arabianum</i>	citotoxinas <sup>1</sup> ,		sim <sup>1</sup> ,
<i>P. arenarium</i>	DSP	AO <sup>1, 13</sup> ,	-
<i>P. belizeanum</i>	DSP	AO <sup>1</sup> , DTX-5c <sup>4</sup> ,	-
<i>P. borbonicum</i>	Provavelmente neurotoxinas <sup>1,3,6</sup> ,	-	-
<i>P. cassubicum</i>	DSP?	? <sup>1</sup> ,	-
<i>P. concavum</i>	? <sup>1</sup> ,	? <sup>1</sup> ,	-
<i>P. emarginatum</i>	Hemolisina <sup>1</sup> ,	-	-
<i>P. faustiae</i>	DSP	AO e DTX-1 <sup>1</sup> ,	-
<i>P. hoffmannianum</i>	DSP e toxinas de ação rápida <sup>1</sup> ,	AO <sup>1</sup> ,	-
<i>P. lima</i>	DSP e Ciguatera, toxinas de ação rápida <sup>1</sup> ,	AO e DTX-1 <sup>3</sup> , DTX-1 <sup>5</sup> , AO, DTX-1 e DTX-2 <sup>7</sup> , DTX-4 <sup>8</sup> ,	-
<i>P. maculosum</i>	DSP e Toxina de ação rápida <sup>1</sup> ,	AO <sup>1</sup> , DTX-4 <sup>8</sup> ,	-
<i>P. mexicanum</i>	Hemolisinas <sup>15</sup>	-	-
<i>P. minimum</i>	Tóxica para artemia, moluscos e ratos <sup>1</sup> , Neurotoxina? <sup>12</sup>	-	-
<i>P. rathymum</i>	Hemolisinas e toxinas solúveis em metanol <sup>3</sup> ,	-	-
<b><i>Dinophysis</i></b>			
<i>D. acuminata</i>	DSP	AO <sup>1</sup> , DTX-1, PTX-2 <sup>9, 10, 16</sup> ,	-
<i>D. acuta</i>	DSP	AO, DTX-1 e DTX-2 <sup>1</sup> , PTX-2 <sup>9</sup> ,	-
<i>D. caudata</i>	DSP	AO e PTX-2 <sup>1</sup> , AO e DTX-1 <sup>11</sup> ,	-
<i>D. fortii</i>	DSP	AO, DTX-1 e DTX-2 <sup>1</sup> , PTX-2 <sup>14</sup> ,	-
<i>D. miles</i>	DSP	AO e DTX-1 <sup>1, 11</sup> ,	-
<i>D. mitra</i>	DSP	DTX-1 <sup>1</sup> ,	-
<i>D. ovum</i>	DSP	AO <sup>2</sup> ,	-
<i>D. norvegica</i>	DSP	AO e DTX-1 <sup>1</sup> ,	-
<i>D. rapa</i>	DSP	AO <sup>1</sup> ,	-
<i>D. rotundata</i>	DSP	DTX-1 <sup>1</sup> ,	-
<i>D. sacculus</i>	DSP	AO <sup>1</sup> ,	-
<i>D. tripos</i>	DSP	DTX-1 <sup>1</sup> ,	-

<sup>1</sup>-MOESTRUP, 2004; <sup>2</sup>- RAHO et alli, 2008; <sup>3</sup>- ALIZIJAKI et alli, 2008; <sup>4</sup>- PAZ et alli, 2007; <sup>5</sup>- NASCIMENTO et alli, 2005; <sup>6</sup>- HAGE et alli, 2002; <sup>7</sup>- BRAVO et alli, 2001; <sup>8</sup>- MOROÑO et alli, 2003; <sup>9</sup>- MACKENZI et alli, 2005; <sup>10</sup>- BLANCO et alli, 2007b; <sup>11</sup>- MARASIGAN et alli, 2001; <sup>12</sup>- DENARDOU-QUENEHERVE et alli, 1999; <sup>13</sup>- TEN-HAGE et alii, 2000; <sup>14</sup>- DRASCI et alli, 1996; <sup>15</sup>- NAVES et alii, 2006; <sup>16</sup>- KAMIYAMA; SUZIKI, 2009;



O perfil de produção de ficotoxinas, bem como a concentração intracelular no citoplasma da microalga, é espécie específico (MOROÑO et alli, 2003). Uma mesma ficotoxina pode ser produzida por diferentes espécies (Quadro 01) e uma mesma espécie pode produzir uma suíte de diferentes ficotoxinas. Embora essa variabilidade possa ser observada temporal e espacialmente a proporção entre as toxinas produzidas por uma espécie em um mesmo local parece permanecer constante (MACKENZIE et alli, 2005). Por exemplo, na costa portuguesa *Dinophysis acuta* produz AO e DTX-2 na proporção de 60:40 (VALE, 2006). No entanto na Nova Zelândia *D. acuta* produz apenas PTX-2 (PUENTE et alii, 2004; MACKENZIE et alii *op cit.*).

Portanto para avaliar o risco da ocorrência de intoxicações diarréicas além de identificar as espécies potencialmente tóxicas presentes e quantificá-las também é fundamental conhecer o perfil toxígeno de cada espécie de microalga: toxinas produzidas, sua proporção, bem como variabilidade espacial e temporal. Segundo Lindhal et alii (2007) em análises de perfis tóxicos para *D. acuta* e *D. acuminata* na costa da Suécia, verificou-se que mexilhões apresentaram concentrações suficientes para produzir casos de DSP tanto quando se alimentaram de 1500 células de baixo potencial toxígeno, quanto de apenas 100 células com altas concentrações intracelulares de toxinas.

Por exemplo, na baía de Sepetiba a ficotoxina diarréica ácido okadaico foi detectada em baixas concentrações (na ordem de poucos nanogramas. grama de glândula digestiva<sup>-1</sup>) em diferentes situações sugerindo um perfil constante de produção desta ficotoxina ao longo do tempo (OLIVEIRA et alli, 2005; FERREIRA, 2004). No entanto em um ambiente adjacente, na baía de Ilha Grande, a mesma ficotoxina apresentou grande variabilidade: da ordem de nanogramas de AO no outono de 2004 à microgramas na primavera e verão de 2006/2007 (LOURENÇO et alli, 2007; MARINÉ, 2007). Nas duas situações associou-se a produção da ficotoxina AO à mesma espécie de dinoflagelado: *Dinophysis acuminata*. Essa espécie apresenta a ficotoxina ácido okadaico como sua principal toxina diarréica em várias partes de mundo, embora também possa produzir outras toxinas diarréicas.

As espécies de microalgas produtoras de ficotoxinas são denominadas **potencialmente tóxicas** porque podem não expressar sua capacidade toxígena em determinadas circunstâncias. Ou seja, a simples presença da microalga potencialmente tóxica não significa presença obrigatória da(s) toxina(s) à ela atribuída(s).

A expressão do potencial toxígeno pode ser afetado por fatores bióticos e/ou abióticos resultando em uma grande variabilidade intraespecífica. Por exemplo, Jhoansson et alli (1996) encontraram para *D. acuminata* aumento na produção de ácido okadaico, em condições de limitação de nutrientes. Em situação limitante por nitrogênio, o aumento da produção pode ser até seis vezes maior que em condições normais, onde a relação nitrogênio:fósforo esteja balanceada (16:1). Comportamento similar apresenta *Prorocentrum lima*, indicando maior potencial para produção de toxinas em resposta ao estresse ambiental (GRANÉLI et alli, 1998). Tal variabilidade acaba por refletir-se em diferentes concentrações das toxinas nos moluscos.

Muito se tem discutido acerca do aumento na frequência e na intensidade de episódios associados às microalgas nocivas. Vários fatores já foram apontados como hipóteses ao incremento: aumento no esforço de pesquisa, disseminação das microalgas ou seus cistos via maricultura ou água de lastro (hipóteses de emigração), favorecimento das espécies toxígenas devido à eutrofização cultural e à mudanças climáticas globais (hipótese da mudança ambiental) (HALLEGRAEF, 1993; SMAYDA, 2002).

Mais de uma década de pesquisa e as hipóteses foram sendo confirmadas. Smayda (2007) discute o paradigma da introdução de microalgas nocivas via água de lastro (também por organismos utilizados na maricultura): ciclos naturais de expansão das microalgas, ritmos de florações, problemas metodológicos de amostragem, mudanças ambientais que favoreçam

o estabelecimento da microalga e posterior floração, entre outros. Cita diversos exemplos, como da introdução de dinoflagelados tóxicos associados à entrada de ostras perliíferas na Europa, à introdução de cistos de *Gymnodinium catenatum* na Tasmânia via água de lastro. Mas salienta a importância de utilizar determinados critérios para verificar se uma espécie realmente foi introduzida acidentalmente ou se era uma espécie críptica na comunidade fitoplanctônica local.

Denomina-se eutrofização cultural a alteração no balanço de nutrientes em águas costeiras mediado por ação antrópica. Esse desequilíbrio inicialmente leva à alterações na composição da comunidade fitoplanctônica, e suas consequências nocivas estendem-se ao longo de toda a teia trófica marinha. Atualmente há um consenso na comunidade científica acerca de seu papel na promoção e manutenção de florações de algas nocivas, ao atuar como agente de desequilíbrio no ambiente natural e levado ao favorecimento das microalgas mais rústicas e/ou mais aptas a sobreviverem nestas condições de degradação da qualidade da água do mar (HEISLER et alli, 2008). Além disso, Granéli et alli (2008) reiteram que o fenômeno da eutrofização cultural favorece a produção de substâncias alelopáticas/tóxicas como mecanismo para obtenção de vantagens competitivas em um ambiente em desequilíbrio. Na última década se pode observar, ao longo de regiões costeiras em todo o mundo, eventos de FAN's mais intensos, duradouros, com maior número de espécies tóxicas envolvidas levando a expressivos prejuízos ecológicos e econômicos.

Em função dos sintomas causados em humanos as ficotoxinas marinhas são agrupadas basicamente em seis tipos de síndromes: **a) Envenenamento Paralisante por Moluscos** (Paralytic Shellfish Poisoning, PSP), com toxinas hidrossolúveis (principalmente saxitoxinas STX's) produzidas por dinoflagelados por *Alexandrium* spp., *Gymnodinium catenatum* e *Pyrodinium bahamense* variedade *compressum*, apresenta casos fatais; **b) Envenenamento Diarréico por Moluscos** (Diarrhetic Shellfish Poisoning, DSP), com toxinas lipossolúveis (principalmente ocadaiatos AO e DTX's) produzidas por *Prorocentrum* spp. e *Dinophysis* spp.; **c) Envenenamento Neurotóxico por Moluscos** (Neurotoxic Shellfish Poisoning, NSP), com toxinas lipossolúveis (principalmente brevetoxinas PbTX's), produzidas pelo dinoflagelado *Karenia brevis*; **d) Envenenamento Amnésico por Moluscos** (Amnesic Shellfish Poisoning, ASP), com toxinas hidrossolúveis (principalmente ácido domóico AD) produzido por diatomáceas *Nitzschia* spp. e *Pseudo-nitzschia* spp., pode apresentar casos fatais; **e) Envenenamento Ciguatérico por Peixes** (Ciguatera Fish Poisoning, CFP), toxinas lipossolúveis (principalmente ciguatoxinas CTX's) produzidas pelos dinoflagelados epibentônicos *Gambierdiscus toxicus*, *Prorocentrum* spp., *Ostreopsis* spp. e *Coolia* spp. também apresentando quadro de fatalidade e **f) Envenenamento Azaspirácido** (Azaspiracid Poisoning, AZP), com toxinas lipossolúveis (AZA's) produzidas pelo dinoflagelado *Protoperidinium compressum* (DARANAS et alli, 2001; VAN EGMOND et alli, 2004).

As síndromes de envenenamento por moluscos apresentam dois tipos básicos de distúrbios: neurológicos (PSP e ASP segundo Cembella, 1996 e Bates, 1996) e gastrointestinais (DSP, Ciguatera e AZP segundo Cembella e Wright, 1996). No entanto, a síndrome NSP e Ciguatera apresentam os dois tipos de distúrbio (DARANAS *op cit.*).

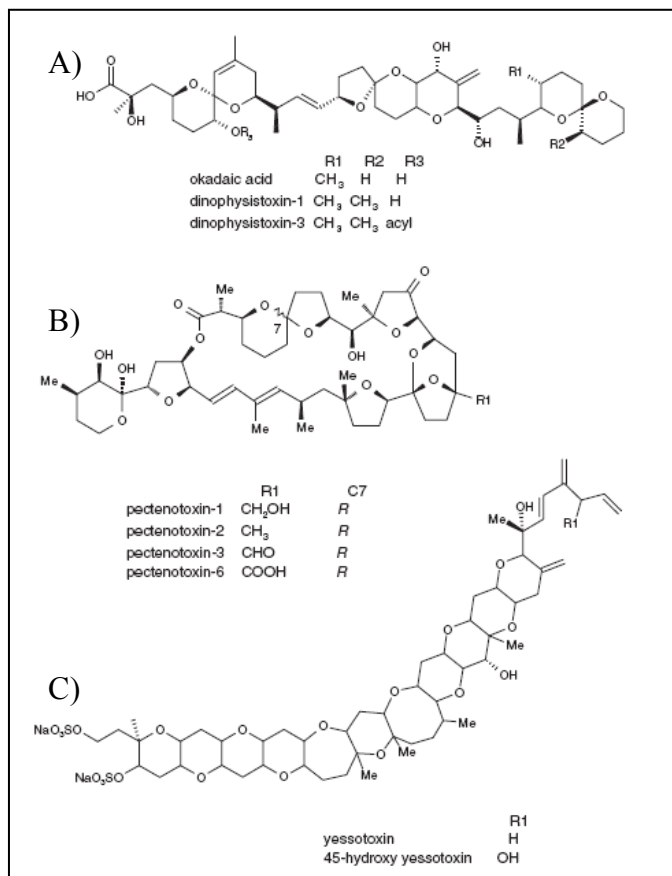
Em comum as síndromes que apresentam sintomas gastrointestinais possuem ficotoxinas com estrutura química de ácido graxo poliéter, que podem ser moléculas lineares (ácido okadaico e dinophysistoxinas), macrocíclicas (pectenotoxinas) ou fusionadas (yessotoxinas, brevetoxinas e ciguatoxinas) (CEMBELLA ;WRIGHT, 1996).

As toxinas que apresentam distúrbios puramente neurológicos têm constituição bioquímica protéica, onde saxitoxinas e ácido domóico são estruturalmente semelhantes ao ácido cáínico, atuando diretamente sobre fibras musculares e neurônios, respectivamente (VAN EGMOND et alii, 2004).

Atualmente tem sido discutida uma nova forma de classificação para as ficotoxinas: em função de sua estrutura química. Pesquisadores que participam como consultores do *Codex Alimentarius* argumentam que essa classificação é operacionalmente mais apropriada por questões analíticas ligadas ao desenvolvimento de padrões para o *Codex*. Dessa forma as ficotoxinas seriam agrupadas em: grupo dos azaspirácidos (AZA), grupo das brevetoxinas, grupo dos ocadaiatos, grupo do ácido domóico, grupo das saxitoxinas, grupo das pectenotoxinas, grupo das yessotoxinas, grupo das iminas ciclicas (TOYOFUKU, 2006). A primeira etapa para a avaliação do risco representado pelas ficotoxinas diarréicas é a identificação do perigo, que começa ao se identificar as espécies potencialmente tóxicas presentes nas áreas de maricultura. E deve prosseguir com o estudo do comportamento destas espécies em suas variações temporais e espaciais (FERREIRA et alii, 2008).

### 2.3.2 Ocadaiatos

A ficotoxina diarréica mais amplamente distribuída e estudada é o ácido okadaico. É a principal toxina promotora do EDM. Sua constituição bioquímica é a de um ácido graxo, poliéter de cadeia linear (Figura 11, item A), com peso molecular de 804,4661 e fórmula  $C_{44}H_{71}O_{13}$  (QUILLIAM ;WRIGHT, 1995).



**Figura 11.** Toxinas lipossolúveis envolvidas no Envenenamento Diarréico por Moluscos. A) Ocadaiatos; B) Pectenotoxinas e C) Yessotoxinas. Adaptado de SUZUKI et alii, 2005.

As toxinas lipofílicas associadas ao Envenenamento Diarréico por Moluscos compreendem a família dos ocadaiatos (ácido okadaico e dinophysistoxinas), as pectenotoxinas e as yessotoxinas (DARANAS et alii, 2001; VAN EGMOND et alii, 2004; SUZUKI et alii, 2005). Em comum possuem os organismos produtores (Principalmente

*Dinophysis*) e a composição bioquímica (ácidos graxos). No entanto, os modos de ação destas ficotoxinas são díspares: ocadaiatos desencadeiam uma sintomatologia estritamente diarréica enquanto pectenotoxinas e yessotoxinas atuam sobre a fisiologia hepática (BURGUESS; SHAW, 2001; VAN EGMOND et alii, 2004). Atualmente recomenda-se que as yessotoxinas e pectenotoxinas sejam reclassificadas à parte, como hepatotoxinas em não como toxinas diarréicas.

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 (VAN EGMOND et alii, 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) (VAN EGMOND et alii, 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. Outro efeito do cozimento é redistribuição das toxinas nos tecidos do animal: na carne fresca 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*. As toxinas somente foram inativadas em altas temperaturas, acima de 130°C, significando que este tipo de processamento não é viável como depuração para toxinas diarréicas. Pois, moluscos submetidos a essas temperaturas tornam-se impalatáveis e perdem seu valor nutricional (MACCARON et alii, 2008).

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 alii, 2003). Há relatos demonstrando que a vieira *Patinopecten yessoensis* (SUZUKI et alii, 1999), o bivalvo *Solen marginatus* (VALE; SAMPAYO, 2002b), caranguejos (TORGENSEN et alii, 2005; VALE; SAMPAYO, 2002b) apresentam a capacidade de realizar a biotransformação de AO e DTX-1,2 em DTX-3. Saliento que não há informações à respeito de biotransformação para as espécies nativas da costa brasileira.

A ficotoxina diarréica ácido okadaico encontra-se disseminada amplamente nos mares de todo o planeta (VALE; SAMPAYO, 2002a). Geralmente DTX-1 ocorre em baixas concentrações na Europa, onde o ácido okadaico é a toxina diarréica predominante, exceto na Noruega (CARMODY et alii, 1996). Na Irlanda a toxina predominante é a DTX-2, com *D. acuta* produzindo também AO em menores concentrações (JAMES et alii, 1997). Na Galícia (Espanha) BRAVO et alii (2001), relataram *Prorocentrum lima* produzindo DTX-1 nas mesmas proporções que o AO (razão AO:DTX-1 de 12,9pg. célula<sup>-1</sup> e 12,4pg. célula<sup>-1</sup>, 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 diarréicas causadoras de DSP (PAVELA-VRANIC et alii, 2002).

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

Em águas brasileiras até o presente momento há relatos de ocorrência do ácido okadaico em Santa Catarina (SCHMITT; PROENÇA, 2000), no litoral do Rio de Janeiro (OLIVEIRA et alli, 2007; LOURENÇO et alli, 2007; MARINÉ, 2007; FERREIRA, 2004) e em Recife (SOUZA et alli, 2007). Ferreira *op. cit.* salienta a necessidade de maiores investigações da presença de outras toxinas lipofílicas no litoral sul fluminense, principalmente DTX-1 e PTX-2 devido a ocorrência de microalgas potencialmente produtoras na região.

Ainda não há estudos sobre o perfil toxígeno expresso pelas espécies de *Dinophysis* que ocorrem no litoral brasileiro. Em nosso litoral a pesquisa na linha de ficotoxinas ainda permanece em uma etapa puramente descritiva, que necessita ser urgentemente fomentada e ampliada à toda costa principalmente onde há parques de maricultura.

Na China o ácido okadaico também é a toxina diarréica mais importante ao longo de todo o ano (MAK et alli, 2005), sendo que na Austrália o AO é acompanhado, em menor escala, pela pectenotoxina-2 (MADIGAN et alli, 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 alli, 2006).

A ação tóxica dos ocadaiatos, verificada em ensaios biológicos e citológicos, é classificada em: genotóxica (SILVA et alli, 2001), carcinogênica (SUEOKA; FUJIKI, 1997), neurotóxica (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et alli, 1997) e citotóxica (HUYNH et alli, 1997).

O principal sintoma do envenenamento diarréico causado pelo AO, a diarreia, pode ser explicado pela hiperfosforilação das proteínas que controlam a secreção de íons de sódio pelas células intestinais ou pelo aumento da fosforilação do citoesqueleto das células do epitélio intestinal resultando, ambas, em alterações na permeabilidade intestinal, que por sua vez leva à perda passiva de fluidos (QUILLIAM; WRIGHT, 1996).

Também tem sido sugerido que o AO possua um mecanismo similar ao da bactéria *Vibrio cholerae*, onde a ativação da enzima adenil ciclase gera um efeito em cascata aumentando o cAMP. Este fosforila certas proteínas que regulam a secreção dos íons de sódio nos intestinos. Por esse motivo os sintomas de DSP são, às vezes, referidos como falso cólera (BURGESS; SHAW, 2001).

As toxinas DSP ligam-se à uma classe particular de receptores celulares, as proteínas fosfatases (PP1 e PP2A), presentes no estômago, cólon e intestino delgado. Logo, a presença destes receptores para o AO indica os possíveis locais para o desenvolvimento de tumores. A ligação do AO às proteínas fosfatases resulta em uma rápida construção de proteínas fosforiladas, atuando o AO como potente inibidor da atividade normal dessas proteínas fosfatases PP1 e PP2A (SVENSSON; FÖRLIN, 1998).

Ensaios realizados com cobaias sugerem que o efeito crônico dos ocadaiatos seja a promoção de tumores no estômago e intestino (FAO, 2004).

Ocadaiatos possuem LD<sub>50</sub> de 200 µg.Kg<sup>-1</sup> e 166 µg.Kg<sup>-1</sup> (i.v.) para AO e DTX-1, respectivamente (BURGUESS; SHAW, 2001). Porém para o desencadeamento de sintomas gastrintestinais em humanos a dose requerida é menor, de 32 µg de DTX-1, sugerindo uma maior sensibilidade em humanos à ação da toxina que em ratos (YASSUMOTO et alli, 1985 apud BURGUESS; SHAW *op. cit.*).

Toxinas diarréicas são lipossolúveis e acumulam-se na glândula digestiva dos moluscos. Assim que o animal tem acesso a alimento (microalgas) livres de toxinas inicia-se o processo de depuração. Svensson e Förling (2004) verificaram que a floração sazonal de diatomáceas foi fundamental para a depuração natural de *M. edulis* nas costas da Suécia e Noruega. Dentre os fatores abióticos que influenciam na capacidade de depuração a temperatura foi o mais importante, pois atuou diretamente ditando o ritmo metabólico.

Em situação experimental controlada Svensson (2003) observou a capacidade de depuração do mexilhão azul em 32 dias, contaminado naturalmente durante uma floração de *Dinophysis* spp. e alimentado em laboratório com microalgas não toxígenas.

A principal via de eliminação de substâncias lipídicas em animais é via fecal, conforme pode ser comprovado em experimentos com copépodos (microcrustáceos) onde suas pelotas fecais continham grande quantidade de célula tóxicas de *Dinophysis*. Essa é uma significativa forma de exportação de toxinas diarréicas para o domínio bentônico, contribuindo para a toxidez de espécies coprófagas (MANEIRO et alii, 2002).

Outro aspecto importante para a depuração de toxinas diarréicas é sua afinidade pela espécie de molusco. Por exemplo, para o mexilhão *M. galloprovincialis* o ácido okadaico (toxina que predomina na primavera e se estende até o verão) apresenta velocidade de depuração superior a DTX-2. Dessa forma a dinophysistoxina-2 acumula-se gradualmente nos mexilhões (mas sofre toxicocinética e migra da glândula digestiva para os demais tecidos) ao longo do final do verão e início do outono no litoral português. Já para o bivalvo *Cerastoderma edulis* as duas toxinas apresentaram o mesmo percentual de depuração (VALE, 2004).

Moluscos que estejam contaminados com mais que  $2\mu\text{g AO.grama}^{-1}$  glândula digestiva de molusco ou  $1,8\mu\text{g DTX-1.grama}^{-1}$  glândula digestiva de molusco são considerados impróprios ao consumo humano (HALLEGRAEFF, 1995). O nível regulatório utilizado na maioria dos países é de  $16\text{mg AOequivalente. kg}^{-1}$  de carne de molusco e a metodologia oficialmente recomendada é o bioensaio com camundongos (TOYOFUKU, 2006).

Esses limites foram estabelecidos com base em dados epidemiológicos e toxicológicos com objetivo de garantir que os moluscos estejam aptos ao consumo humano. A ferramenta empregada na vigilância destes limites é o **monitoramento** tanto das ficotoxinas nos moluscos e nas microalgas toxígenas, quanto do acompanhamento da identificação destas microalgas potencialmente tóxicas e de sua variabilidade espacial e temporal (REGUERA, 2002; VAN EGMOND et alii, 2004).

Países onde a malacocultura atingiu o status industrial contam com programas de monitoramento (que abrangem ficotoxinas, metais tóxicos, bacteriológico e pesticidas) há décadas. Como exemplo, países da União Européia, Estados Unidos, Japão, Nova Zelândia e Chile (REGUERA *op cit.*). A FAO (2008) aponta como principal entrave ao desenvolvimento da macocultura brasileira a ausência de um programa nacional de monitoramento, visto que apenas o litoral de Santa Catarina possui um programa piloto que envolve Universidades, EPAGRI, Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP) e o setor produtivo. Recentemente foi criado o Programa Nacional de Sanidade de Moluscos Aquáticos (normativa MAPA, Nº 53 de 2 de julho de 2003) que organizará ações com vistas à manutenção das condições higiênico-sanitárias nos cultivos. E tramitando junto à SEAP encontra-se em fase de discussão e organização o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalvos. Porém ambos os programas ainda não se encontram em atividade.

Bioensaios apresentam baixa especificidade e alta sensibilidade. Isso significa que a presença de outras toxinas lipofílicas pode causar interferências e gerar falsos resultados, além de não se poder discernir entre as toxinas diarréicas presentes. Além disso, a DTX-3 não é detectada através desta metodologia. Por exemplo, em um surto de DSP ocorrido em Portugal onde bioensaios foram negativos, pois a toxina que desencadeou o evento foi DTX-3, somente confirmada com o uso de cromatografia líquida de alta eficiência (VALE; SAMPAYO, 1999). Outra desvantagem é pertinente ao limite de detecção: concentrações da ordem de dezenas ou centenas de nanogramas não são detectáveis. Dessa forma, os consumidores poderiam ser expostos ao efeito crônico, sem que houvesse nenhuma suspeita desse perigo ou forma de avaliar seu risco. A utilização de animais nestes ensaios, onde um dos critérios a ser avaliado

é observar tempo necessário até o óbito, também abarca aspectos éticos; o que vem despertando muita discussão entre os órgãos protetores dos animais, comissões de ética e grupos de pesquisa (VAN EGMOND et alii, 2004).

Os métodos de ensaio analíticos, baseados em características químicas das toxinas diarreicas fornecem alternativa com maior sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade e menor limite de detecção. Um dos mais recomendados, embora mais caros e dependentes de pessoal altamente qualificado, é a cromatografia líquida de alta eficiência (LEE et alii, 1987; LAGOS, 2002). A metodologia consiste na extração da(s) toxina(s) da matriz orgânica (glândula digestiva do molusco ou citoplasma da microalga), com solventes orgânicos, etapa de clarificação para remoção de sujidades, derivação para tornar a toxina detectável ao sensor UV, e análise no cromatógrafo. No entanto as metodologias existentes ainda carecem de validação interlaboratorial, para sua acreditação e a certificação do laboratório responsável (VAN EGMOND et alii, 2004).

Microalgas pertencentes ao gênero *Prorocentrum* geralmente produzem toxinas em situação de floração enquanto que *Dinophysis* pode produzi-las mesmo em baixas densidades celulares (poucas centenas de células por litro de água do mar), segundo Reguera (2002). Em função desta característica o monitoramento da comunidade fitoplanctônica constitui importante ferramenta para a tomada de decisão em uma situação de risco.

Em relação ao gênero *Dinophysis* há uma ferramenta de monitoramento denominado **Índice *Dinophysis***. Que consiste em acompanhar, ao longo do tempo, o desenvolvimento das populações deste gênero presentes na coluna d'água. Quando a contagem total de *Dinophysis* atinge o patamar de 400 células por litro de água do mar configura-se uma situação de alerta, com risco da presença de toxinas diarreicas em concentrações suficientes para causar DSP. (REGUERA *op cit.*).

Foi o que aconteceu recentemente no litoral de Florianópolis e que possibilitou a tomada de decisão de suspender temporariamente a venda de moluscos. Mesmos assim, após a população de microalgas ter diminuído ocorreu repentinamente a primeira floração deste gênero relatada para a costa brasileira. E apesar das medidas tomadas cerca de 150 pessoas foram acometidas de DSP, número que poderia ter sido extremamente superior se as devidas medidas não tivessem sido tomadas (PROENÇA et alii, 2007).

Quando as toxinas encontram-se nos moluscos e o alerta de sua presença dado pelo monitoramento culmina na suspensão da comercialização antes que surjam casos de EDM em humanos diz-se que ocorreu um evento tóxico (REGUERA, 2002).

### **2.3.3 Implicações na saúde pública: envenenamento diarreico por moluscos**

O primeiro relato de problemas gastrintestinais associados ao consumo de moluscos, que haviam se alimentado de dinoflagelados, ocorreu na Holanda na década de 60. No entanto na ocasião foi implicado o agente etiológico errado, pois *Prorocentrum micans* era a espécie mais abundante (posteriormente comprovada atóxica). Não houve suspeitas de que *Dinophysis acuta*, presente em densidades celulares baixas pudesse ser o real causador do evento (KATT apud SCHMITT; PROENÇA, 2000). Também no Chile foram observadas intoxicações diarreicas, entre 1970-1971, pioneiramente associadas à floração de *Dinophysis* spp. (GUZMÁN; CAMPODONICO apud REGUERA, 2002).

Porém, somente em 1976 o Envenenamento Diarreico por Moluscos foi definido como uma doença, sendo identificados seus sintomas, toxinas envolvidas, agente etiológico e vetores para humanos. Nesse episódio foram acometidas mais de mil de pessoas que haviam comido mexilhões e vieiras. Isolou-se pela primeira vez a ficotoxina DTX-1, cuja produção por *Dinophysis fortii* foi comprovada inequivocamente (YASSUMOTO et alii, 1980).

Há relatos da síndrome DSP em escala global, ocorrendo principalmente onde há maior consumo de moluscos (DARANAS et alii, 2001). Recentemente foi relatado o primeiro

surto de DSP na costa brasileira. Ocorreu em Santa Catarina, em janeiro de 2007, com mais de 150 casos (PROENÇA et alii, 2007).

Os sintomas clínicos de DSP podem ser confundidos com os de uma gastroenterite de origem bacteriana. Não causam óbitos. Em eventos agudos, com ingestão de doses acima de 48  $\mu\text{g AO.grama}^{-1}$  de glândula digestiva, os sintomas são náuseas, dores abdominais, vômitos e diarreia. Surgem no intervalo entre 30 minutos até poucas horas após o consumo de moluscos contaminados. Raramente o quadro clínico manifesta-se passadas mais de 12 horas. Os sintomas cessam após três dias, com ou sem tratamento médico. Recomenda-se apenas, como suporte, a reposição de líquidos e eletrólitos para compensar a intensa perda de água (FAO, 2004).

No *Codex Alimentarius* (2006) ficotoxinas são classificadas como contaminantes naturais. Este órgão regulamenta padrões internacionais para segurança alimentar, baseado em análises de risco. Dessa forma é possível gerar padrões internacionais que direcionem a criação e/ou aprimoramento de legislações pertinentes à contaminantes e xenobióticos nos alimentos.

Por exemplo, na Europa a questão das biotoxinas marinhas é regulada pela Directiva 91/492/CCE, de 15 de julho de 1991, definindo limites para a presença de ficotoxinas em moluscos cultivados ou explorados de bancos naturais. No Brasil há iniciativa de regulamentação para ficotoxinas (diarréicas e paralisantes) em moluscos na forma de portaria 021/GABS/DAS, de 1 de outubro de 2002, no estado de Santa Catarina (PROENÇA; VILLAC, 2003).

Pesquisadores *ad hoc* de uma junta composta pelas Organizações para Agricultura e Alimentação, Comissão Oceanográfica Intergovernamental e Organização Mundial de Saúde (Joint FAO/IOC/WHO) avaliaram o risco das ficotoxinas presentes em moluscos bivalvos com vistas à segurança alimentar. Calcularam o NOAEL<sup>2</sup> e LOAEL<sup>3</sup> (Quadro 02) baseados em dados epidemiológicos de casos ocorridos no Japão e Noruega. No entanto ainda não existem dados suficientes, epidemiológicos nem estudos sobre os efeitos crônicos do AO, para um cálculo seguro de Dose Diária de Ingestão destas substâncias (TOYOFUKU, 2006).

**Quadro 02.** Dados utilizados no Cálculo da Dose Aguda de Referência para a toxina 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*.

Dados	NOAEL <sup>a</sup>	LOAEL <sup>a</sup>	Dose Aguda de Referência (Provisória)	Nível Máximo
Japão	-	1,2-1,6	-	0,16mg. kg <sup>-1</sup>
Noruega	-	1-1,5	-	
<i>Codex</i>	1	1	0,33 $\mu\text{g.kg de peso corpóreo}^{-1}$	
EFSA	-	0,8	0,3 $\mu\text{g.kg de peso corpóreo}^{-1}$	

<sup>a</sup> Por quilograma de peso corpóreo.

Mesmo com um programa de monitoramento que abrange toda a costa europeia continuaram surgindo casos de DSP em consumidores de moluscos, além dos 10% de susceptíveis previamente estimados. Segundo Alexander et alii (2008) o banco de dados toxicológico dos ocadaiatos é limitado e compreende principalmente estudos de toxicidade aguda. O Painel da European Food Safety Authority baseou-se em experimentos de DL<sub>50</sub> (i.p.) para o estabelecimento de Fatores de Equivalência Tóxica (toxic equivalence factors - TEFs): AO e DTX1 = 1, DTX-2 = 0,6. Afirmam que os dados crônicos dos efeitos do AO e equivalentes (em animais e em humanos) são insuficientes para o cálculo seguro da DDI. Em função disso decidiram estabelecer uma Dose Aguda de Referência (ARfD) provisória

<sup>2</sup> No Observed Adverse Effects Level – Nível em que não são observados efeitos adversos.

<sup>3</sup> Lowest Observable Adverse Effects Level – Nível inferior em que se observam efeitos adversos.



baseada apenas em dados humanos. LOAEL 50µgAO equivalente por pessoa, ou seja, 0,8µgAOeq.kg peso corpóreo<sup>-1</sup> para adultos. Utilizou-se fator de segurança 3 para a extrapolação ao calcular-se o NOAEL que resultou em uma ARfD de 0,3µgAOeq.kg peso corpóreo<sup>-1</sup>. O painel EFSA não considerou necessário aplicar fator de incerteza visto que os dados humanos utilizados basearam-se em um grande número de consumidores de moluscos afetados oriundos de diversos países. Para proteger os consumidores dos riscos oferecidos pelo efeito agudo do AO recomenda-se utilizar nos estudos uma porção maior que a realmente ingerida pelas pessoas. O painel EFSA considerou uma porção de 400g de molusco.

Consumidores regulares de moluscos, contaminados com concentrações de toxinas diarréicas abaixo do limite necessário ao desencadeamento dos sintomas clássicos, encontram-se expostos ao efeito crônico destas toxinas. A principal toxina diarréica, o ácido okadaico, é um potente promotor de tumores no trato gastrointestinal, assim como também o é a dinofisistoxina-1 (SUEOKA; FUJIKI, 1997). Na França um estudo epidemiológico pioneiro (estudo ecológico) encontrou uma correlação significativa entre câncer e consumo de moluscos contaminados com a ficotoxina ácido okadaico (CORDIER et alii, 2000).

Os principais veículos de toxinas diarréicas para humanos são os moluscos bivalvos. Na Europa principalmente *Mytilus edulis* (mexilhão azul) e *M. galloprovincialis* (mexilhão do Mediterrâneo) segundo Moroño et alii, 2003; VAN EGMOND et alii, 2004; Mouratidou et alii, 2006. No entanto há relato de surto de DSP em Portugal associado ao consumo de *Solen marginatus* (razor clam) e caranguejos (*Carcinus maenas*) relatado por Vale e Sampayo (2002). Centenas de pessoas foram acometidas pela síndrome diarréica na Noruega ao comer caranguejos (*Cancer pagurus*) que haviam se alimentado de mexilhões durante uma floração de *Dinophysis acuta* (TORGENSEN et alii, 2005). Pouco AO livre foi detectado, sendo sua forma esterificada (DTX-3) a principal toxina envolvida neste surto.

Toyofuku (2006) aponta como principal problema para o levantamento de mais dados toxicológicos a falta de quantidades suficientes de toxinas diarréicas purificadas. E salienta a necessidade de realização de mais testes toxicológicos, para consequentemente gerar avaliações de risco mais precisas.

A metodologia normativa utilizada internacionalmente para a detecção de ficotoxinas é o bioensaio.

### 2.3.4 Efeitos adversos na sanidade de moluscos

A Organização Mundial para Saúde Animal (World Organization for Animal Health - OIE) define doença como “*infecção clínica ou não, com um ou mais agentes etiológicos de doenças referidas no Código Aquático*” e agente de doença como “*organismo que cause ou contribua para o desenvolvimento de uma doença referida no Código Aquático*”. E lista para moluscos aquáticos os patógenos de relevância: *Perkinsus marinus*, *P. olseni*, *Bonamia ostreae*, *B. exitiosa*, *Haplosporidium nelsoni*, *Marteilia refringens*, *Mikrocitrus mackini* (OIE, 2008). Não há nenhuma citação acerca de microalgas potencialmente tóxicas.

Conforme já supracitado, moluscos bivalvos atuam como organismos pastadores em ambientes aquáticos, consumindo principalmente organismos da comunidade fitoplanctônica que conter microalgas capazes de produzir toxinas. Tais produtos naturais marinhos, ficotoxinas, têm demonstrado exercer a função ecológica de evitar a ação de herbívoros sobre as microalgas potencialmente nocivas. Há relatos acerca de várias espécies de moluscos que apresentam alterações comportamentais como retração de seus sifões, fechamento de suas valvas e parada da alimentação na presença de microalgas nocivas (HÉGARET et alii, 2007).

Via de regra, considerava-se que não havia efeitos adversos significativos das ficotoxinas sobre a sanidade destes animais. Em humanos e, mamíferos marinhos em geral, as ficotoxinas atuam sobre canais de sódio (toxinas paralisantes, amnésicas, ciguatéricas, neurotóxicas) ou em proteínas fosfatases (ocadaiatos). Moluscos possuem em suas

membranas celulares canais de cálcio, carencendo assim de sítios de ligação onde as ficotoxinas pudessem exercer plenamente sua ação tóxica (VAN EGMOND et alii, 2004).

Na última década intensificaram-se os trabalhos experimentais sobre os efeitos das microalgas nocivas, e suas substâncias bioativas, na saúde dos moluscos. Revelando que, embora não causem uma patologia *stricto sensu*, podem gerar alterações de ordem fisiológica ou histológica, ou até mesmo levar à mortalidade por toxicidade aguda determinados estádios de desenvolvimento de moluscos. Os trabalhos realizados têm revelado que a relação entre microalgas tóxicas e os moluscos é espécie-específica (GALIMANY et alii, 2008).

A maioria dos experimentos têm sido realizados com ostras (*Crassostrea gigas* e *C. virginica*), pois são as espécies de bivalvos mais cultivadas em todo o mundo. Matsuyama et alii (2000) relataram a massiva mortalidade (90%) de larvas trocóforas de *C. gigas* expostas 8-10 horas à diferentes microalgas nocivas (*Alexandrium tamarense*, *A. taylori*, *Gymnodinium mikimotoi*). *G. mikimotoi* é implicado na produção de ictiotoxinas e em mortalidade de diversos moluscos como *Haliotis discus*, *Sulculus diversicolor* e *Mytilus edulis*.

O impacto gerado pela ficotoxina ácido okadaico na saúde de humanos já foi completamente elucidado e bem documentado na literatura científica desde a década de 70. Moluscos bivalvos desempenham comumente o papel de bioacumuladores desta toxina, atuando dessa forma apenas como ‘vetores’ para os humanos consumidores (DARANAS et alii, 2001; HALLEGRAEFF, 2003).

Carvalho Pinto-Silva et alii (2003) demonstraram experimentalmente o efeito genotóxico do ácido okadaico em mexilhões *Perna perna*. Animais adultos foram expostos à ficotoxina (0,3µg AO diluído em 10µl água ultrapura:metanol, 1:1 v/v; injetada diretamente em seus sífões inlantes) e tiveram a hemolinfa coletada em diferentes períodos (24, 48 e 72 horas). Os animais apresentaram percentual significativamente mais alto na formação de micronúcleo nos hemócitos da hemolinfa do tratamento de 24h. Tal fato sugere que o ácido okadaico seja rapidamente metabolizado em uma forma altamente reativa causando dano ao DNA do núcleo dos hemócitos que se encontravam em processo de divisão celular naquele momento. Dessa forma a genotoxicidade da ficotoxina ácido okadaico em mexilhões sugere um efeito adverso na biodiversidade genética para a população de animais desta espécie. O dano ao DNA poderá ser traduzido na criação de mutações letais, bem como na expressão de genes que afetem o crescimento e a reprodução desta espécie de bivalvo importante econômica e ecologicamente. O ácido okadaico também já demonstrou ser genotóxico para células de mamíferos.

Auriemma e Battistella (2004) verificaram a produção de uma proteína de 30kDa na glândula digestiva de *M. edulis* mediada pela presença do ácido okadaico. Tal proteína foi associada ao funcionamento do sistema imune do animal, atuando como um mecanismo natural de detoxificação. No grupo controle não foi observada a presença da proteína. Durante o mesmo experimento, no grupo dos animais tratados com AO foi observada alteração histológica na glândula digestiva, na forma de intensa formação de vesículas lipídicas. Não houve relato de alteração na função digestiva da glândula. Animais do grupo controle não apresentaram a alteração histológica.

Outro efeito adverso observado em hemócitos do mexilhão *Mytilus galloprovincialis* foi o aumento da taxa de fagocitose mediado pelo ácido okadaico em temperatura de 25°C, indicando uma possível alteração nos caminhos de sinalização e transdução do imunócito. Como a ficotoxina bioacumula em bivalvos seu efeito a longo prazo permanece desconhecido. (MALAGOLI et alii, 2008).

Galimany et alii (2008) observaram várias respostas do sistema imune do mexilhão *M. edulis* na presença da microalga *Prorocentrum minimum*: diapedesi dos hemócitos no intestino (associado à tentativa de encapsulamento de *P. minimum*), aumento da migração dos hemócitos para a glândula digestiva e intestino na tentativa de proteger os órgãos da ação

tóxica. Também foi observada uma progressiva degranulação dos hemócitos interpretada como uma resposta imune.

A capacidade de *clearence* de *P. perna* é afetada pela quantidade e qualidade do alimento disponível, mas sobretudo, pela temperatura. Atinge seu máximo à 25°C e cessa à 30°C (RESGALLA-JR et alli, 2007).

## 2.4 Dinoflagelados do Gênero *Dinophysis* Ehrenberg 1839

### 2.4.1 Classificação

Dinoflagelados são organismos eucariotos, unicelulares, portanto classificados como Protistas (TAYLOR, 1987). Surgiram no final do Triássico (mais de 200 milhões de anos) e tiveram seu auge no Cretáceo. Cistos de dinoflagelados (dinocistos) são amplamente utilizados como ferramenta de datação para sedimentos marinhos e análise de paleoclimas. São fósseis encontrados em toda a costa brasileira e bons indicadores para a prospecção de petróleo (ARAI; LANA, 2004).

Este é um dos gêneros de dinoflagelados com maior número de espécies (SOURNIA, 1986). A ordem Dinophysiales compreende três famílias: Amphisoleniaceae, Dinophysiaceae e Oxyphysiaceae (Figura 12). Todas compartilham as características de achatamento lateral, orientação flagelar dinocoque, cíngulo pré mediano, cíngulo e sulcus margeados por aletas (sustentadas por espinhos, ou raios), teca constituída por 17 ou 18 placas. A família Dinophysiaceae compreende os gêneros: *Citharistes*, *Dinophysis*, *Histioneis*, *Ornithocercus*, *Phalacroma* (= *Dinophysis*), *Sinophysis* (STEIDINGER; TANGEN, 1997).

Atualmente encontram-se listadas 145 espécies para o gênero *Dinophysis* (mais *Phalacroma*), segundo Gómez (2005). Todas as formas são dinococcos e tecados. No caso dos dinofisóides a fórmula da tabulação kofoidiana é similar para todas as espécies, que são constituídas por cerca de 18 ou 19 placas: 4 localizadas na epiteca, 2 apicais, 4 cingulares, 4 ou 5 sulculares e 4 localizadas na hipoteca (STEIDINGER; TANGEN, 1997).

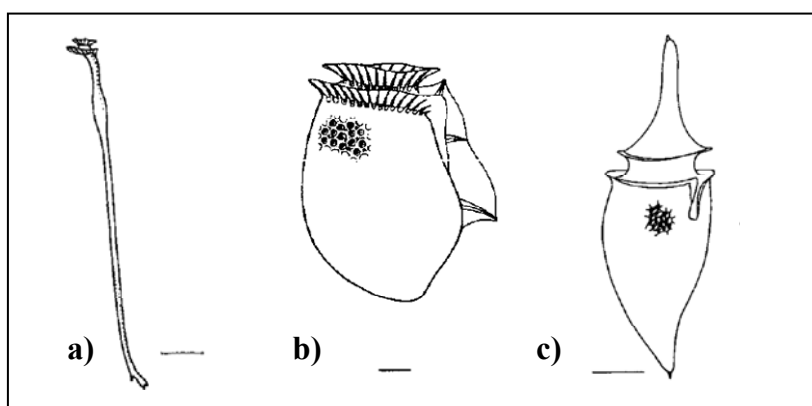
**Domínio** Eukaria

**Filo** Dinophyta ou Phirrophyta

**Ordem** Dinophysiales Lindemann, 1928

**Família** Dinophysiaceae Stein, 1883

**Gênero** *Dinophysis* Ehrenberg, 1839



**Figura 12.** Ordem Dinophysiales (Lindemann 1928). Composta por três famílias: a) Amphisoleniaceae, representada por *Amphisolenia bidentata* escala 100 µm; b) Dinophysiaceae, representada por *Dinophysis acuta*, escala 10 µm; c) Oxyphysiaceae representada por *Oxyphysis oxytoxoides*, escala 10µm. Adaptado de Steidinger; Tangen, 1997.

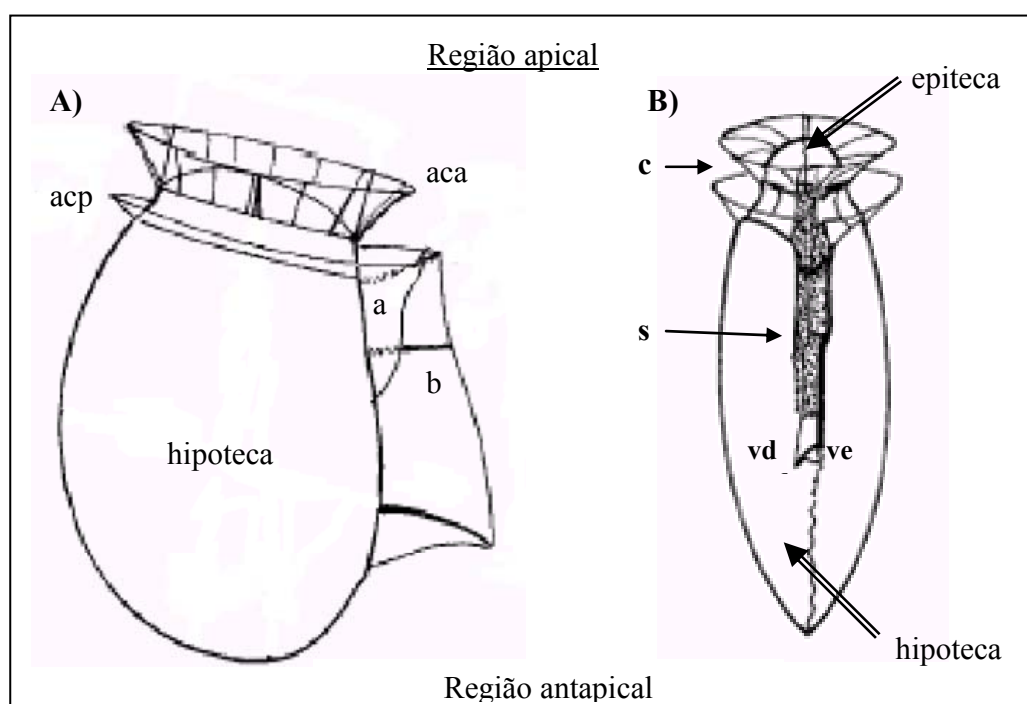
A descrição do gênero *Dinophysis* foi realizada com base em *D. acuta* descrita por Christian Ehrenberg em 1839. Originalmente as espécies de dinofisóides eram repartidas em

dois gêneros *Dinophysis* e *Phalacroma*, agora considerados como sinonímias. A diferença morfológica entre eles residia na epiteca sempre diminuta e escondida pela aleta cingular anterior no primeiro e proeminente e convexa em *Phalacroma*; também utilizava-se o argumento de que as espécies pertencentes a *Phalacroma* são predominantemente heterótrofas enquanto que em *Dinophysis* eram consideradas em sua maioria autótrofas. Posteriormente, baseando-se em estudos da tabulação das placas tecais não foram encontradas diferenças significativas entre os dois gêneros, que foram reunidos em um só gênero: *Dinophysis* (HALLEGRAEFF; LUCAS, 1988; LARSEN; MOESTRUP, 1992).

#### 2.4.2 Aspectos morfométricos: taxonomia

Dinoflagelados pertencentes ao gênero *Dinophysis* possuem envoltório celular composto por um conjunto de placas celulósicas, semelhante a um quebra-cabeças, chamado teca. São ditos, portanto, dinoflagelados tecados. A superfície da célula encontra-se marcada por duas reentrâncias, uma transversal e outra longitudinal, denominadas cingulo e sulcus, respectivamente. As espécies deste gênero apresentam sempre o cingulo localizado em posição muito anterior (pré mediano) e sulcus muito curto (BALECH, 2002).

Para fins de taxonomia convencionou-se como região ventral a parte da célula onde localiza-se o sulcus. A região oposta é dita dorsal. A teca é considerada como composta por duas metades, uma esquerda e outra direita unidas por uma sutura (Figura 13). Por isso esse gênero é chamado bivalvo (BALECH, *op. cit.*). Para identificação das espécies observa-se o tamanho e formato da célula, a relação de tamanho entre a epiteca e a hipoteca, a presença de projeções na hipoteca (quantidade e formato) e a morfologia das aletas sulcais e cingulares (STEIDINGER; TANGEN, *op. cit.*). A maioria das células apresenta tamanho médio.



**Figura 13.** Representação esquemática de *Dinophysis*. A) Célula em visão lateral, valva direita: aca – aleta cingular anterior; acp – aleta cingular posterior; a – aleta sulcal direita; b- aleta sulcal esquerda; epiteca oculta pela aleta cingular anterior. B) Célula em visão ventral: c – cingulo; s – sulcus; vd – valva direita; ve – valva esquerda; h - hipoteca. Adaptada de BALECH, 2002.

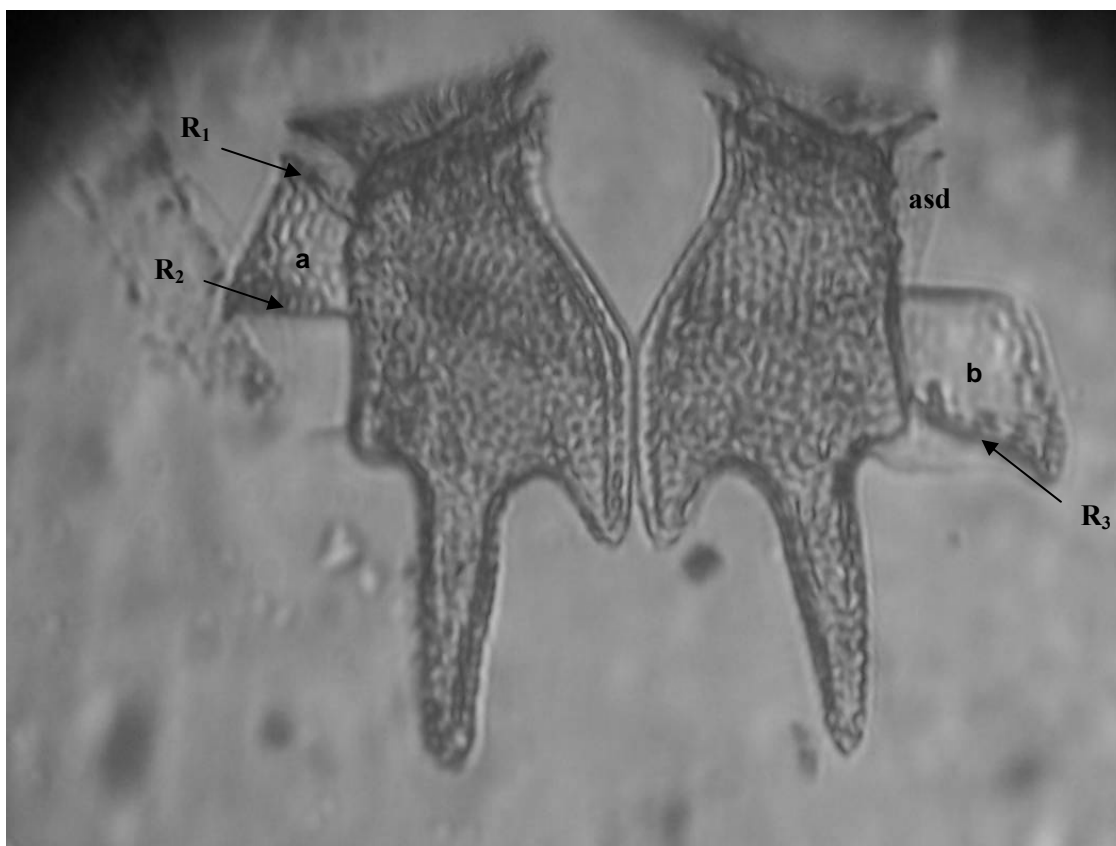
A parte superior da célula localizada acima do cingulo chama-se epiteca e a inferior, abaixo do cingulo, a hipoteca. Uma marcante característica deste gênero é uma epiteca sempre

diminuta (exceto em *D. rotundata*) e escondida pela aleta cingular anterior quando a célula é vista lateralmente. A hipoteca é bem desenvolvida, sempre de maior tamanho que a epiteca, podendo apresentar projeções que auxiliam na caracterização em nível específico.

Dinoflagelados dinofisóides possuem dois flagelos heterocontes, com origem na região ventral da célula para os classificados como dinocontes. Um flagelo emerge do cíngulo e enrola-se em torno dele. O outro nasce do sulcus e estende-se longitudinalmente em relação à célula. A combinação do batimento destes dois flagelos produz o padrão de natação rodopiante típico deste grupo de microalgas (FENSOME et alli, 1993). Em exemplares fixados com formaldeído os flagelos não são observados, pois o fixador faz com que desprendam da célula. Para que possam ser observados, o material deve ser fixado com lugol (REGUERA, 2002).

O cíngulo é ladeado por duas aletas: aleta cingular anterior (aca) e aleta cingular posterior (acp). Da mesma forma o sulcus é delimitado por duas aletas, uma direita sempre de tamanho pequeno e uma esquerda com presença de três raios ou costelas ( $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ). Nas diferentes espécies deste gênero a aleta sulcal esquerda apresenta tamanho variado, porém sempre maior que a aleta sulcal direita (TAYLOR, 1987).

Na observação da aleta sulcal esquerda é necessário cuidado, pois em células recém-divididas as células filhas apresentam-se cada uma com parte desta aleta (Figura 14): uma fica com a porção superior da aleta, com  $R_1$  e  $R_2$ , e a outra com a porção inferior somente com  $R_3$ . Como parte final do processo de divisão celular as aletas de ambas células se regenerarão completamente (REGUERA, 2004).



**Figura 14.** Fotomicrografia de *D. tripos* células recém divididas. Notar a divisão da aleta sulcal esquerda em a e b. A célula filha da esquerda herdou a porção inicial a e os dois primeiros raios ( $R_1$  e  $R_2$ ). A célula filha da direita permaneceu com a porção final da aleta b, com o último raio  $R_3$  e com a aleta sulcal direita (asd). O processo de divisão termina com a completa regeneração das aletas sulcais. Foto da autora, enseada de Maciéis, Angra dos Reis, RJ.

Vários pesquisadores estudaram a disposição das placas tecais de *Dinophysis* e propuseram fórmulas para sua tabulação. A tabulação proposta Balech atualmente é a mais utilizada e compõe-se de 18 placas: 4 na epiteca ( $E_{1-4}$ ), 4 cingulares ( $C_{1-4}$ ), 4 sulcais ( $S_a$ ,  $S_s$ ,  $S_p$  e  $S_d$ ), 4 na hipoteca ( $H_{1-4}$ ) e duas formando o poro apical ( $A_{1-2}$ ) (TAYLOR 1987; HALLEGRAEFF; LUCAS, 1988).

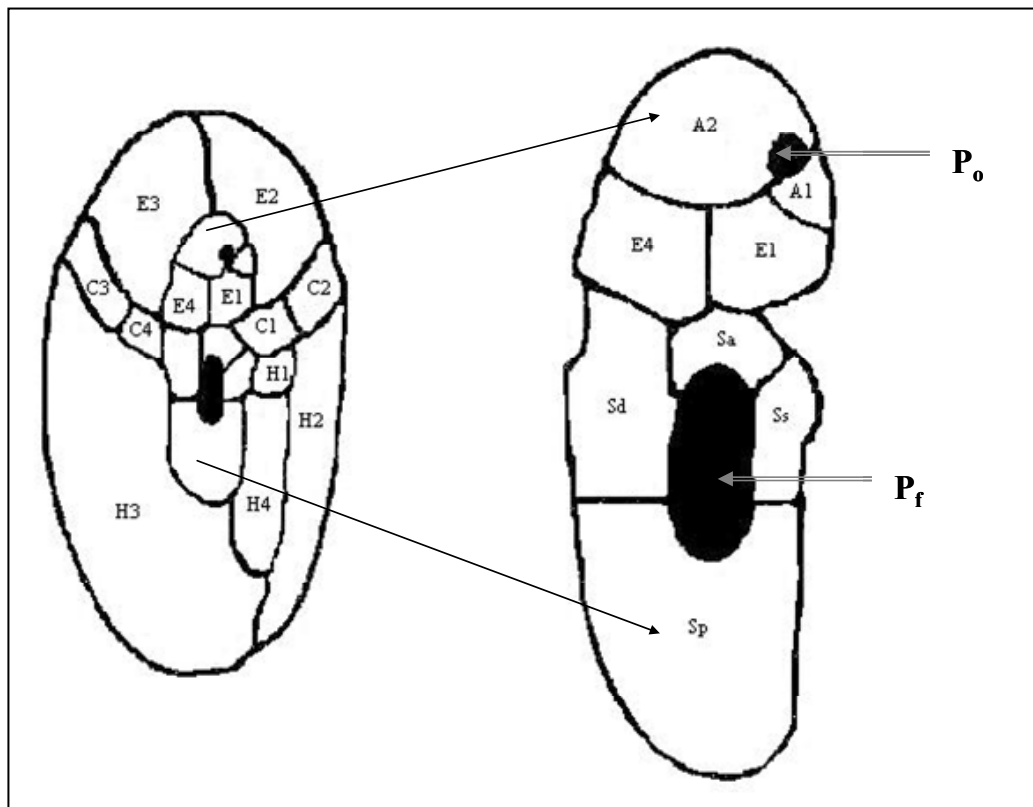
Abé tentou aplicar o sistema de Kofoid enquanto que os outros propuseram um sistema único para dinofisóides. Os dois últimos, Tai Lisung; Skogsberg e Balech, são muito similares entre si (FENSOME et alli, 1993).

No sistema de tabulação proposto por Kofoid há seis séries transversais de seqüências para disposição das placas tecais: apical ('), anterior intercalar (a), pré-cingular (''), pós-cingular (''), posterior intercalar (p) e antapical (''). Notar que esta tabulação não inclui o estudo das placas cingulares e sulcais.

Trabalhos posteriores adicionaram ao sistema kofoidiano placas cingulares (c), sulcais (s) e componentes do sistema do complexo apical: poro apical (Po), cp e placa X.

As tecas em proroentróides e dinofisóides podem ser divididas em duas metades similares no sentido longitudinal, sendo chamados de dinoflagelados bivalvos. Dessa forma a tabulação criada por Kofoid não se aplica aos dinoflagelados das ordens Prorocentrales e Dinophysiales (STEIDINGER; TANGEN, 1997).

Outra incongruência entre os sistemas kofoidiano e organismos dinofisóides diz respeito ao complexo do poro apical. Na tabulação criada por Kofoid esse complexo localiza-se no topo da célula, na região apical, o que não acontece com dinofisóides. Nestes organismos o poro apical é extremamente diminuto, localiza-se ventralmente e não apresenta placa X. É formado por duas pequenas placas ( $A_1$  e  $A_2$ ) localizadas logo acima das placas epitecais  $E_4$  e  $E_1$  (Figura 15).



**Figura 15.** Esquema da tabulação da teca de *Dinophysis* em visão ventral, sem as aletas cingulares e sulcais.  $A_1$  e  $A_2$ : placas do poro apical;  $P_o$ : poro apical;  $E_{1-4}$ : placas da epiteca;  $C_{1-4}$ : placas cingulares;  $H_{1-4}$ : placas da hipoteca;  $S_a$ : sulcal anterior;  $S_s$ : sulcal sinister, i.e. esquerda;  $S_d$ : sulcal dexter, i.e. direita;  $S_p$ : sulcal posterior;  $P_f$ : poro flagelar. Adaptada de Taylor, 1980 apud Taylor 1987.

Uma célula típica de *Dinophysis* apresenta tabulação com quatro séries latitudinais bem distintas e conservativas: **a) Sequência da epiteca.** Formada por duas grandes placas ( $E_2$  e  $E_3$ ) localizadas na região dorsal anterior e duas placas menores ( $E_1$  e  $E_4$ ) na região ventral, as duas primeiras com sua sutura inferior em contato com a parte anterior do cíngulo e as duas últimas em contato com o sulcus. Ainda na epiteca observam-se duas placas que delimitam o poro apical ( $A_{1-2}$ ) essas placas não possuem nenhum contato com o cíngulo, o poro apical ( $P_o$ ) apresenta tamanho muito reduzido e é deslocado ventralmente; **b) Sequência do cíngulo.** Formada por quatro placas aproximadamente retangulares ( $C_{1-4}$ ), localizado entre as aletas cingulares anterior e posterior. As placas dorsais ( $C_2$  e  $C_3$ ) apresentam maior tamanho que as placas ventrais ( $C_1$  e  $C_4$ ); **c) Sequência da hipoteca.** Formada por duas grandes placas ( $H_2$  e  $H_3$ ) localizadas na região dorsal com suas suturas superiores em contato com a parte posterior do cíngulo e duas menores ( $H_1$  e  $H_4$ ) localizadas na região ventral.  $H_1$  conecta-se com o cíngulo e com o sulcus e  $H_4$  apenas com o sulcus. O sulcus permanece oculto entre as aletas sulcais direita e esquerda (TAYLOR 1987); **d) Sequência do sulcus.** Formada por quatro placas identificadas por sua denominação latina:  $S_a$  – sulcal anterior,  $S_d$  – sulcal dexter (sulcal direita),  $S_s$  – sulcal sinister (sulcal esquerda) e  $S_p$  – sulcal posterior. As quatro placas delimitam o poro de onde emergem os flagelos transversal e longitudinal.

As aletas cingulares são formadas à partir de expansões das placas da epiteca (aleta cingular anterior) e da hipoteca (aleta cingular posterior), principalmente das placas dorsais de maior tamanho,  $E_2$  e  $E_3$  e  $H_2$  e  $H_3$  respectivamente. A aleta sulcal direita é formada à partir da placa hipotecal  $H_3$  e a aleta esquerda à partir das placas  $H_1$  e  $H_4$  (SOURNIA, 1986).

Porém Balech (1980) apud Hallegraeff; Lucas (1988) considera que *Dinophysis* apresenta teca com uma ‘especialização’ morfológica extrema e tabulação das placas tecais constante. Por isso, o estudo da morfologia e do arranjo das placas sulcais são de pouco valor taxonômico para a identificação das espécies deste gênero. Além disso, o estudo das placas cingulares e sulcais demandam microscopia eletrônica de varredura e mesmo assim são de difícil visualização.

A identificação das espécies pertencentes a este gênero baseia-se na forma e tamanho da célula, ornamentação das tecas (principalmente a presença de projeções espinhos na hipoteca) e morfologia das aletas e espinhos (STEIDINGER; TANGEN, 1997).

### 2.4.3 Bioecologia

Dinoflagelados são importantes constituintes na base da cadeia trófica marinha, principalmente em ambientes tropicais com águas oligotróficas. Dessa forma desempenham importante papel na transferência de matéria e energia ao longo da teia trófica marinha (SPECTOR, 1984).

Atualmente é senso comum que suas relações ecológicas dentro da comunidade planctônica são complexas e, até mesmo, paradoxais. *Dinophysis* podem atuar tanto como presas quanto como predadoras de protozoários (HANSEN, 1991; CARVALHO et alii, 2008). Também podem ser por eles parasitados, como o relatado para *D. norvegica* pela ameba *Amoebophrya*, podendo ser a infecção letal ao dinoflagelado (SOLOMON et alii, 2006).

Podem alimentar-se de outras microalgas – criptofíceas de pequeno tamanho - e manter seus cloroplastos durante um certo tempo realizando fotossíntese à seu favor (TAKAHASHI et alii, 2005). No Japão Nishitani et alii (2005) observaram em ambiente natural a relação entre *Dinophysis acuminata* e pequenas criptofíceas, estabelecendo uma correlação entre elas: com o decréscimo da abundância das criptofíceas ocorria o pico de abundância do dinoflagelado sugerindo uma relação predador-presa.

A circunstância supracitada, manter temporariamente os cloroplastos de sua presa, faz com que essas organelas em *Dinophysis* sejam denominadas como cleptoplastídios. O

pigmento principal de dinoflagelados autotróficos é a peridinina e os encontrados em espécies autotróficas e mixotróficas de *Dinophysis* possuem plastídeos ricos em ficobilina. Estudos moleculares realizados por Takishita et alii (2002) demonstraram afinidade filogenética de cleptoplastídeos de *D. acuminata*, *D. fortii* e *D. norvegica* com a criptofíceia *Geminigera cryophila*. Outra via também discutida é que tenha ocorrido ao longo de sua evolução um evento de endossimbiose de criptofíceas e *Dinophysis*. Posteriormente foram encontrados plastídeos em outra espécie *D. mitra*, desta vez heterotrófica. Análises filogenéticas revelaram pigmentos e ultraestruturas relacionados à haptófitas, provavelmente adquiridos via mizocitose (KOIKE et alii, 2005).

*Dinophysis* também podem ser predadas por outro dinoflagelado: *Noctiluca scintillans*. Nas Rias Baixas da Galícia esses grandes dinoflagelados heterotróficos foram encontrados com vacúolos alimentares repletos de *Dinophysis* spp. denotando que *Noctiluca* pode vir a desempenhar um papel na transferência de toxinas diarréicas dentro da teia trófica marinha (ESCALERA et alii, 2007).

Outro importante predador são copépodos (microcrustáceos) tanto em ambiente natural quanto em situação experimental. Porém não foram observados efeitos nocivos sobre os copépodos *Calanus helgolandicus*, *Temora longicornis* e *Acartia* sp. e nem sobre a maturação de seus ovos (JANSEN et alii, 2006). Os resultados sugerem que copépodos podem ser importantes tanto na prevenção quanto no controle de florações de *Dinophysis*. Além disso, os níveis de toxinas diarréicas encontradas em copépodos foram muito baixos, inferiores ao esperado, demonstrando que esses organismos zooplancônicos não constituem importante vetor destas toxinas para níveis tróficos mais altos (KOZLOWSKY-SUZUKI et alii, 2006).

Organismos filtradores são importantes predadores dessas microalgas no domínio bentônico: moluscos bivalvos (FAO, 2004), ascídeas, esponjas e poliquetos (REIZOUPOLU et alii, 2008), dos quais apenas o primeiro grupo atua como vetor de toxinas diarréicas para humanos consumidores devido ao consumo das microalgas toxígenas.

Pequenos peixes pelágicos, planctófagos, também podem consumir *Dinophysis*. E, quando estas expressam sua capacidade toxígena os peixes podem apresentar concentrações traço de toxinas diarréicas em suas vísceras (REGUERA, 2002).

Quanto à forma de alimentação as espécies deste gênero podem apresentar autotrofia (organismos que sintetizam seu próprio alimento a partir de fontes inorgânicas), heterotrofia (organismos que ingerem outros para sobreviver). Além disso, também há espécies reconhecidamente capazes de ingerir matéria orgânica particulada, mesmo continuando a realizar fotossíntese, ou seja, espécies capazes de mixotrofia (CARVALHO et alii, 2008). A distinção entre espécies autótrofas e heterótrofas pode ser realizada através de microscopia de epifluorescência, onde nas primeiras espécies os cloroplastos emitem luminescência vermelha enquanto que nas heterótrofas o citoplasma fluoresce em verde brilhante ou não há fluorescência (HALLEGRAEFF; LUCAS, 1988; HANSEN, 1991).

Este gênero é reconhecidamente exigente em questões nutricionais, apenas os meios de cultura tradicionais com nutrientes inorgânicos e vitaminas mostraram-se insuficientes. Durante décadas o cultivo de *Dinophysis* foi inviável devido à impossibilidade de atender a todas as suas exigências nutricionais. Porém, Park et alii (2006) conseguiram pioneiramente estabelecer experimentalmente o cultivo de *D. acuminata* suplementando o meio de cultura com sua presa.

Espécies classificadas anteriormente como pertencentes ao gênero *Phalacroma* são em sua maioria reconhecidamente heterotróficas, não possuindo pigmentos e seu habitat preferencial são águas oceânicas oligotróficas (KOFOID; SKOGSBERG (1928) apud HALLEGRAEFF; LUCAS, *op cit.*). Apresentam vacúolos alimentares e para algumas espécies já foi descrito o comportamento alimentar, como em *D. rotundata*, que utiliza um



pedúnculo projetado à partir do sulcus para alimentar-se do conteúdo citoplasmático de protozoários ciliados marinhos (HANSEN, 1991). Tal processo alimentar foi denominado 'mizocitose' e também recentemente foi relatado para *D. acuminata* na primeira experiência de cultivo bem sucedida para o gênero *Dinophysis*, onde a microalga foi alimentada com o ciliado *Myrionecta rubra* (PARK et alii, 2006).

Carvalho et alii (2008) analisaram filogeneticamente populações naturais de *D. norvegica* e encontraram em seus vacúolos alimentares conteúdo citoplasmático da criptofíceia *Teleaulax amphioxeia*. No entanto ao tentar estabelecer cultivo de *D. norvegica*, fornecendo a criptofíceia como presa não foi observado crescimento do dinoflagelado. Os pesquisadores sugeriram, à semelhança do relatado por Park e colaboradores, que os cleptoplastídios adquiridos por *D. norvegica* tenham vindo de um protista que por sua vez havia se alimentado da criptofíceia. Concluíram, então, que a autotrofia mediada pelos cleptoplastídios seriam uma estratégia de obtenção de energia complementar.

Em espécies heterótrofas quando os cloroplastos estão presentes costumam ser pequenos, na forma de bastões e amarelados (KOFOID; SKOGSBERG 1928 apud HALLEGRAEFF; LUCAS, *op cit.*). Podem apresentar luminescência típica de autótrofos devido a presença de simbiontes ou ao conteúdo de alguma presa fotossintetizante (HALLEGRAEFF; LUCAS, *op cit.*).

Já as sempre classificadas como pertencentes ao gênero *Dinophysis* são consideradas como fotossintéticas e de habitat nerítico em sua maioria. Seus cloroplastos são granulares ou como bastões, de coloração amarela, marrom ou marrom-avermelhados (KOFOID; SKOGSBERG 1928 apud HALLEGRAEFF; LUCAS, *op cit.*). As espécies heterótrofas deste gênero, *D. hastata* e *D. schuettii* são encontradas em águas oceânicas de mares tropicais e subtropicais.

Os pigmentos presentes em dinoflagelados autótrofos incluem clorofila  $c_2$ , peridina e carotenóides. A aquisição dos cloroplastos em *Dinophysis* deu-se via endossimbiose de uma crisofíceia (PRÉZELIN, 1987), sendo estes cloroplastos denominados cleptoplastídios.

#### 2.4.4 Fatores que interferem na sua distribuição

*Dinophysis* é um gênero amplamente distribuído em todo o oceano mundial. Tipicamente as espécies ocorrem em águas oceânicas e neríticas, podendo ser encontradas em ambientes costeiros (STEIDINGER; TANGEN, 1997). Algumas espécies podem ser abundantes em águas costeiras, especialmente em áreas eutróficas (TAYLOR et al., 1995).

Espécies de *Dinophysis* raramente formam florações ( $10^4$ - $10^5$  células por litro), geralmente apresentam concentrações celulares baixas (LARSEN; MOESTRUP, 1992; HALLEGRAEFF; LUCAS, 1988). Embora sejam eventos raros, há relatos de excepcionais florações no mar do Japão com *D. fortii*, na Europa com *D. acuminata*, *D. acuta* (Espanha) e *D. norvegica* (mar do Norte) (HALLEGRAEFF; LUCAS, *op cit.*). Em janeiro de 2007 ocorreu a primeira floração que se tem relato de *D. acuminata* em águas brasileiras, atingindo o patamar máximo de  $5.2 \times 10^4$  células.l<sup>-1</sup>, havendo contaminação de mexilhões com toxinas diarreicas e mais de uma centena de casos de EDM (PROENÇA et alii, 2007). No entanto, segundo REGUERA (2002), poucas centenas de células de *Dinophysis* por litro de água do mar já seriam suficientes para produção de episódios de envenenamento diarreico por moluscos.

Porém, comumente espécies pertencentes ao gênero *Dinophysis* não são abundantes na comunidade fitoplanctônica, geralmente correspondem a cerca de 1-10% de toda a comunidade (REGUERA, 2003). Para a comunidade planctônica da ilha Guaíba FERREIRA (2004) encontrou abundâncias relativas menores que 1% na primavera verão de 2003/2004; Vianna (2003) encontrou os mesmos valores para a primavera de 2001 e o outono de 2002.

Em macroescala (latitudinal) o gênero apresenta espécies típicas de águas frias (como *D. norvegica*), tropicais (como *D. caudata*), mas também espécies capazes de apresentar ampla distribuição. Como exemplo de espécie cosmopolita pode-se citar *Dinophysis acuminata* que ocorre principalmente em águas temperadas e frias dos oceanos Índico, Pacífico (Chile, Japão, Tasmânia, Nova Zelândia) e Atlântico (Uruguai, Argentina e África do Sul e toda a costa europeia); também com ocorrência para os mares Mediterrâneo e Adriático (REGUERA, 2003).

Os relatos existentes acerca deste gênero para águas brasileiras apresentam *D. acuminata* como a principal espécie do gênero nos litorais dos estados da região sudeste (BARBOZA, 1997; VILLAC; TENENBAUM, 2001; VIANNA, 2003; FERREIRA, 2004; BASTOS; GARCIA, 2005; LOURENÇO, et alii 2007; MARINÉ, 2007; VILLAC et alii, 2008; MOSER et alii, 2009) e sul (SCHIMIT; PROENÇA, 2000; PERSICHT; GARCIA, 2003; PROENÇA, 2004; MAFRA-JUNIOR et alii, 2006; FUJITA; ODEBRECHT, 2007; PROENÇA, 2007; MACEDO, 2007; BASTOS, 2009a).

Outras espécies são relatadas para águas mais quentes, quer sejam para o nordeste brasileiro ou para regiões do sudeste/sul durante os meses mais quentes do ano: *D. caudata* (ESKINASE-LEÇA et alii, 1972; VIANNA, 2003; FERREIRA, 2004; BASTOS; GARCIA, 2005; FUJITA; ODEBRECHT, 2007; MACEDO, 2007; VILLAC et alii, 2008; BASTOS, 2009c); *D. fortii* (FERREIRA, 2004; MARINÉ, 2007; BASTOS, 2009f); *D. tripos* (VIANNA, 2003; FERREIRA, 2004; MOSER et alii, 2005; MARINÉ, 2007) e *D. rotundata* (FERREIRA, 2004).

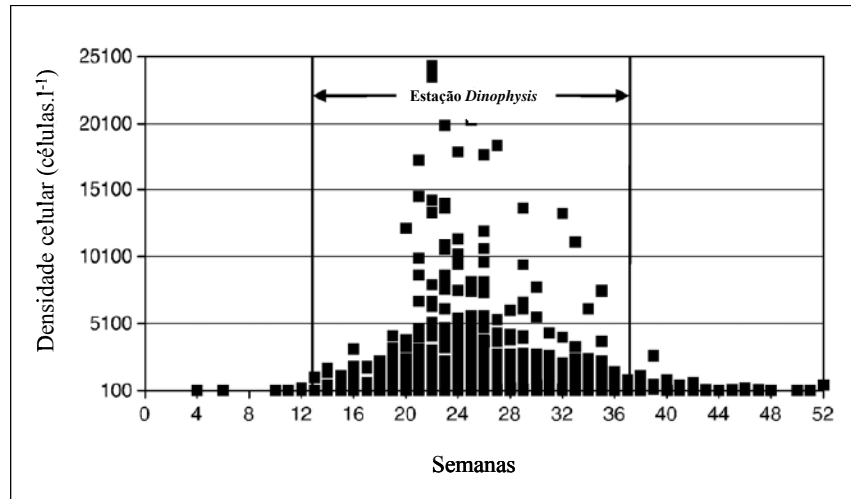
Há espécies apenas relatadas para águas frias do extremo sul do Brasil: *D. brevisulcus*, *D. circumsutum*, *D. exigua*, *D. minuta*, *D. ovata*, (Bastos, 2009 b, d-e, g-h). No entanto salienta-se que até o presente momento nenhuma destas espécies se encontra implicada na produção de toxinas diarréicas (pois não encontram-se na Lista Taxonômica do IOC/UNESCO), embora todo o gênero *Dinophysis* seja considerado potencialmente toxígeno (REGUERA, 2002).

Em mesoescala a distribuição das microalgas encontra-se atrelada às diferenças existentes entre massas d'água. Pois organismos fitoplanctônicos encontram-se sujeitos ao movimento imposto pelo hidrodinamismo devido a seu restrito poder de locomoção. Por esse motivo considera-se que organismos planctônicos sejam excelentes indicadores de massa d'água (NYBAKKEN, 2001). Nessa escala encontramos principalmente diferenças moduladas pelos fenômenos e processos oceanográficos que ocorrem nas províncias nerítica e oceânica adjacente, com seu conjunto de massas d'água característico.

Xie et alii (2007) analisaram dados oceanográficos e de distribuição de *D. acuminata* em uma série temporal de 20 anos, com amostragens semanais, para a costa francesa. Puderam constatar que o aumento na densidade celular encontrava-se associado à ocorrência de pequenos vórtices de sub-superfície, induzidos pela ação dos ventos de sudoeste/noroeste que ocorriam durante o final da primavera e ao longo do verão (em situação de coluna d'água estratificada em função da temperatura). Baseado nessas circunstâncias foi determinada uma janela de tempo, denominada estação *Dinophysis*, com duração média de 5 meses (iniciando em abril/maio e com término entre setembro/novembro) onde ocorrem as maiores densidades celulares para essa espécie, fora deste período a densidade celular era muito baixa, menos que 20 células por litro de água do mar (Figura 16).

Em microescala (de metros à décimetros) a distribuição das microalgas é a resultante de um balanço entre variáveis bióticas e abióticas na busca pelo ótimo de desenvolvimento para cada espécie de microalga (NYBAKKEN, 2001). Dessa forma condições de estabilidade de uma coluna d'água podem propiciar um acúmulo de dinoflagelados em uma determinada

profundidade, principalmente onde haja formação de barreiras de densidade. Tal condição de estabilidade da coluna d'água pode ser modulada por um gradiente de temperatura ou de salinidade.



**Figura 16.** Janela de tempo da distribuição de *Dinophysis*, em amostragem semanal, ao longo de 12 anos (1989-2000) na baía de Vilaine, França. Adaptado de Xie et alii, 2007.

Delmas et alii (1992) encontraram um forte gradiente de temperatura determinando a estabilidade da coluna d'água na costa francesa e nessas condições *Dinophysis* spp. apresentaram aumento na densidade celular, por crescimento e/ou acúmulo, na região da termoclina. Também foi verificado se a concentração de nutrientes inorgânicos havia contribuído para o acúmulo, porém essa variável não se mostrou significativa. Nesse trabalho também foi relatado que para ocorrer o acúmulo de *Dinophysis* a condição de estabilidade deveria apresentar-se constante ao longo de um período de duas semanas.

Para verão no mar Báltico, *D. acuminata* apresentou uma distribuição vertical preferencial por águas profundas, abaixo da termoclina à 77 metros de profundidade, em condições de baixa luminosidade e temperatura. Foi constatada evidência de mixotrofia e a microalga apresentou densidade de 18 000 células.l<sup>-1</sup> de água do mar (SETÄLÄ et alii, 2005).

Durante o verão na costa francesa observa-se que *Dinophysis* tendem a se acumular em uma camada de 2 metros de espessura sobre a picnoclina à 12 metros de profundidade (LUVEN et alii, 2005).

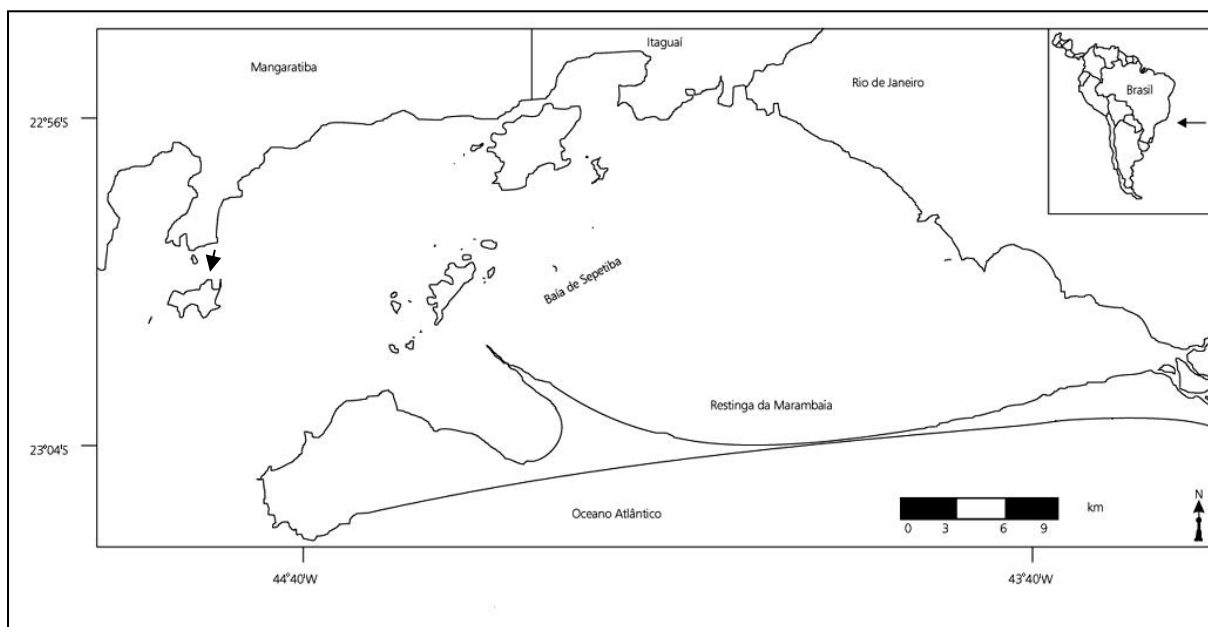
Villarino et alii (1995) encontraram para *D. acuminata* comportamento de migração vertical, em situação de estabilidade no verão. A realização de migração vertical asseguraria a captação de nutrientes disponíveis em águas mais profundas, abaixo da termoclina, durante o período noturno para a realização da fotossíntese durante o dia na zona eufótica. Nesse estudo foi encontrada a densidade máxima de *Dinophysis* entre 0-10 metros durante o dia.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudos

A área de estudos localiza-se na região tropical do Atlântico Sul, sobre a Plataforma Continental Sudeste, que se estende desde Cabo Frio ( $23^{\circ}$  S, Rio de Janeiro) até o Cabo de Santa Marta ( $28^{\circ} 40'$  S, Santa Catarina). A baía de Sepetiba é um ambiente raso, que funciona como um estuário parcialmente misturado em conjunto com a baía de Ilha Grande (BELO, 2003). Localizada no litoral sudoeste do Estado do Rio de Janeiro, entre os paralelos de  $22^{\circ} 53'$  e  $23^{\circ} 05'$  sul e os meridianos de  $44^{\circ} 01'$  e  $43^{\circ} 33'$  oeste, a baía de Sepetiba encontra-se limitada ao norte e ao leste pelo continente, ao sul pela restinga da Marambaia e a oeste pela baía de Ilha Grande. Possui cerca de 130 Km de linha de costa, espelho d'água de  $305 \text{ Km}^2$ , com dimensões de 25 Km no eixo leste-oeste e 12,5 Km no norte-sul (SEMA, 1998).

A fazenda marinha da Associação de Maricultores de Mangaratiba (AMAR) localiza-se na ponta da Passagem na ilha Guaíba em frente ao distrito sede do município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro (Figura 17). A região localiza-se sobre a linha imaginária que separa as baías de Sepetiba e Ilha Grande.



**Figura 17.** Baía de Sepetiba, litoral sul do estado do Rio de Janeiro, onde se localiza a Ilha Guaíba, município de Mangaratiba. Assinalada com seta no mapa a ponta da Passagem onde localiza-se a fazenda marinha da AMAR.

Sobre a Plataforma Continental Sudeste (onde se localiza a região da baía de Sepetiba) encontram-se massas d'água resultantes de uma mistura de: Água Tropical<sup>4</sup> (AT), Água Central do Atlântico Sul<sup>5</sup> (ACAS) e Água Costeira<sup>6</sup> (AC) (CASTRO; MIRANDA, 1998 apud OLIVEIRA, 2006). A Corrente do Brasil (CB) exerce grande influência na Plataforma Continental Sudeste e Sul, principalmente em sua porção mais externa, transportando a AT até a isoterma de 20°C onde se encontra com a Corrente das Malvinas (CM), formando a Zona de Confluência Brasil-Malvinas (ZCBM), entre as latitudes de 36-39° S (SOUZA; ROBINSON, 2004). Durante o verão a CB estende sua influência até a Plataforma Continental Sul e recuando no outono/inverno até a latitude de 24°S. Logo, para a baía de Sepetiba a CB exerce influência ao longo de todo o ano.

Stevenson et alii (1998) demonstraram que durante situações excepcionais no inverno (passagens de sistemas frontais) águas típicas de sistemas temperados podem chegar até a baía de Sepetiba. Tal fato foi demonstrado pela presença de taxons indicadores de águas da plataforma Argentina, que sofreram advecção em direção ao norte através da parte interna da plataforma continental até cerca de 22°S. Souza; Robinson (2004) relataram que recentes trabalhos tem associado à chegada de águas frias e menos salinas da ZCBM em latitudes mais baixas durante o inverno a sistemas frontais e à Oscilação Sul “El Nino”.

A baía de Sepetiba é um sistema estuarino, recebendo aporte de águas doces dos rios de sua bacia hidrográfica e água salgada do oceano Atlântico, através de duas passagens que os interligam. Sua bacia hidrográfica possui cerca de 2 617 Km<sup>2</sup>, abrangendo 12 municípios, onde se encontram áreas de expansão urbana e industrial da cidade do Rio de Janeiro e áreas cobertas por vegetação de mata Atlântica. Essa ocupação do solo diferenciada reflete-se na qualidade da água doce que chega à baía de Sepetiba (SEMA, 1998).

Uma região hidrográfica apresenta características tipicamente serranas (serra do Mar, na área III e II da baía), com cursos d'água de menor volume (rios Grande, Ingaíba, do Bagre e Saí), que drenam áreas menos povoadas e com pouca, ou nenhuma, atividade industrial. A outra região hidrográfica apresenta rios com volume d'água mais expressivos (rios Guandu, da Guarda, Guandu-Mirim e canal do Itá) que drenam áreas densamente povoadas, sem saneamento básico, e com intensa atividade industrial (área I da baía) fonte de poluição principalmente por metais tóxicos. Outros rios, menos expressivos (Piraquê, Portinho, Mazomba e Engenho Novo), embora drenem áreas menos populosas, deságuam em partes da baía onde a circulação é restrita, ou seja, com taxa de renovação de águas muito baixas resultando em degradação ambiental por carga orgânica (extremo leste da área I da baía).

O contato com o oceano Atlântico dá-se principalmente a oeste, na entrada da baía, entre as ilhas de Itacuruçá e Jaguanum e a ponta da Pombeba (na restinga da Marambaia). Nessa região encontram-se as maiores profundidades, entre 24 e 31 metros. Em menor proporção, em virtude das pequenas profundidades, no extremo leste da restinga da Marambaia, na região de barra de Guaratiba, encontra-se a outra comunicação da baía com o oceano.

A profundidade média das águas da baía de Sepetiba encontra-se em torno de 7,7 metros sendo que, aproximadamente, 50% de sua área possui profundidades inferiores a 6 metros (SEMADS, 2001). Outra área de maiores profundidades é o canal central, utilizado para navegação do Porto de Itaguaí. O volume médio de suas águas foi estimado em 2,9 x10<sup>9</sup> m<sup>3</sup>. Como corpo d'água semifechado, a baía de Sepetiba apresenta águas salinas e salobras,

---

<sup>4</sup> Quente (T > 20°C) e salina (> 36,4), transportada na camada superficial da CB (0-200m de profundidade);

<sup>5</sup> Relativamente fria (T <20°C) e menos salina (< 36,4), transportada pela CB entre 200-500 de profundidade;

<sup>6</sup> Resultante da mistura da AT, ACAS com o aporte fluvial. Caracterizada por temperaturas elevadas e baixa salinidade.

onde o rio São Francisco e o Piracão têm influência significativa na distribuição da salinidade dentro da baía, sendo que nas áreas costeiras e no fundo da baía a salinidade é inferior a 30. Na parte central e nas áreas mais expostas ao oceano Atlântico a salinidade varia entre 30 e 34 (SEMADS, 2001).

A circulação das águas, no interior da baía, realiza-se principalmente pela ação da onda de maré, mas também sendo influenciada pela batimetria, morfologia (do fundo e da costa), regime de ventos e pelo aporte de água doce. A amplitude média da maré, em situação de sizígia é de 1,1 metros e, em situação de quadratura de 0,3 metros. O sistema de maré é o semidiurno, com desigualdade diurna, ou seja, ocorrência de duas preamares e de duas baixamares, em um período de 24h, porém com amplitudes diferentes. O padrão de circulação caracteriza-se pelo pequeno tempo de residência (4,17 dias) e ausência de estratificação (grande mistura da coluna d'água) (SEMADS, 2001).

Portanto a baía de Sepetiba pode ser dividida em três áreas (SEMA, 1998): **Área I** - Compreende a região costeira desde a barra de Guaratiba até a ilha da Madeira. Nessa área encontram-se as menores profundidades, com correntes de maré menos intensas, sedimentos de fundo predominantemente argilo-siltosos (característicos de ambientes de baixa energia), grande influência de águas continentais. Principalmente no trecho entre a ilha da Madeira e o canal do Itá, chega à baía 63,7% da carga orgânica total ( $69.920 \text{ Kg DBO} \cdot \text{dia}^{-1}$ ), oriunda de esgotos domésticos. A porção localizada à leste do canal do Itá recebe cerca de 34,7% da carga orgânica total da baía. **Área II** - Região localizada entre a costa oeste da ilha da Madeira e da costa oeste da ilha de Jaguanum. Aqui, encontram-se as maiores profundidades, conseqüentemente correntes de maré mais intensas, sedimentos de fundo com valores equivalentes de areia e argilo-siltosos (característico de balanço de energia). É uma área de transição onde há maior mistura da água costeira com a que chega da plataforma. **Área III** - Situada a partir da costa oeste da ilha de Jaguanum. Predomínio de sedimentos grossos (área de alta energia), principalmente areia, caracterizando forte influência oceânica. As áreas II e III juntas contribuem com apenas 1,6% da carga orgânica total diária para a baía de Sepetiba.

## 3.2 Coleta

### 3.2.1 Das microalgas

Mensalmente, durante um ano, a comunidade fitoplânctônica foi coletada utilizando-se uma garrafa Van-Dorn (Alfakit, capacidade de 2L), à cada metro ao longo de uma coluna d'água de 8 metros de profundidade, segundo definido conjuntamente com a Dr<sup>a</sup>. Beatriz Reguera (comunicação pessoal<sup>7</sup>). Como as espécies procuradas são características de ambientes nerítico e oceânico as coletas ocorriam sempre na preamar. Um litro de água do mar era mensurado em uma proveta graduada e passado através de uma rede de plâncton (Alfakit, 30 cm de boca, 1 metro de comprimento, malha de  $20 \mu\text{m}$ ) para a coleta da fração do microfítoplâncton e para concentrar a amostra em um volume de 100ml. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos foscos, com bartoque, identificadas e fixadas com formaldeído para posterior identificação e contagem das espécies dos dinoflagelados de interesse. As coletas foram realizadas em embarcação cedida pelo maricultor Lúcio Gualaudi Silva e viabilizada pela Secretaria de Agricultura, Pesca e Meio Ambiente da Prefeitura Municipal de Mangaratiba e pela Associação dos Maricultores de Mangaratiba.

---

<sup>7</sup> Pesquisadora do Instituto Oceanográfico Espanhol, Vigo, Pontevedra, Galícia. Em janeiro de 2007.

### 3.2.2 Das variáveis oceanográficas

Ao longo do mesmo perfil de 8 metros a temperatura foi mensurada através de termômetro acoplado à garrafa Van-Dorn, a salinidade obtida pelo uso do refratômetro portátil UNITY (RTS-101ATC), a profundidade Secchi mensurada com disco de Secchi. Os parâmetros climatológicos (precipitação média, intensidade e direção média do vento) foram gentilmente cedidas pela Estação Meteorológica da Cia. Vale localizada na ilha Guaíba.

### 3.3 Identificação e Quantificação de *Dinophysis*

Foram observadas 5 alíquotas de 20ml de cada amostra coletada, perfazendo um total de 100ml analisado por amostra. As alíquotas foram depositadas em câmaras de sedimentação Utermöl (Fleming), cobertas com lamínula e observadas sob microscópio óptico invertido NIKON Eclipse TS100. Como as microalgas de interesse apresentam ocorrência rara, foi contada toda a câmara de sedimentação em aumento de 100x. Os exemplares de *Dinophysis* foram fotografados com máquina digital KODAC EasyShare (CX7430) nos aumentos de 100, 200 e 400x em microscopia de campo claro e contraste de fase. A identificação foi baseada em análise morfométrica, uma vez que a tabulação de *Dinophysis* é constante em nível de gênero. O material de referência utilizado na identificação foi Taylor et alii (1995), Steidinger; Tangem (1997), Balech (2002) e Raho et alii (2008).

### 3.4 Análise Estatística

Foi realizada análise de variância bi-fatorial (bem como testes de normalidade e homogeneidade das variâncias) para verificar se houve diferença significativa na densidade celular de *Dinophysis* nas diferentes profundidades amostradas, em relação à diferentes épocas do ano (outono, inverno, primavera e verão). E também se a variação na ocorrência das microalgas com a profundidade está relacionada à estação do ano com auxílio do programa GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Software, 1992-2007).

A dominância de uma determinada espécie de *Dinophysis* em função do tempo foi calculada através de análise de classificação (Cluster) efetuada com o programa Fitopac v1.6 (SHEPHERD, 2004). Para verificar a relação existente entre as espécies de *Dinophysis* e os parâmetros oceanográficos e climatológicos disponíveis foi realizada análise multivariada (Análise de Redundância Canônica) no programa CANOCO for Windows. Análise empregada foi uma análise de Redundância canônica (RDA), usando uma matriz de variáveis faunísticas (dinoflagelados) e de variáveis previsoras (ambientais ou abióticos). A análise de Redundância Canônica parte da premissa de que as relações entre as distribuições de organismos (no caso, representadas pela matriz de ocorrências de dinoflagelados) e o ambiente (as variáveis físicas) seguem um modelo linear de resposta.

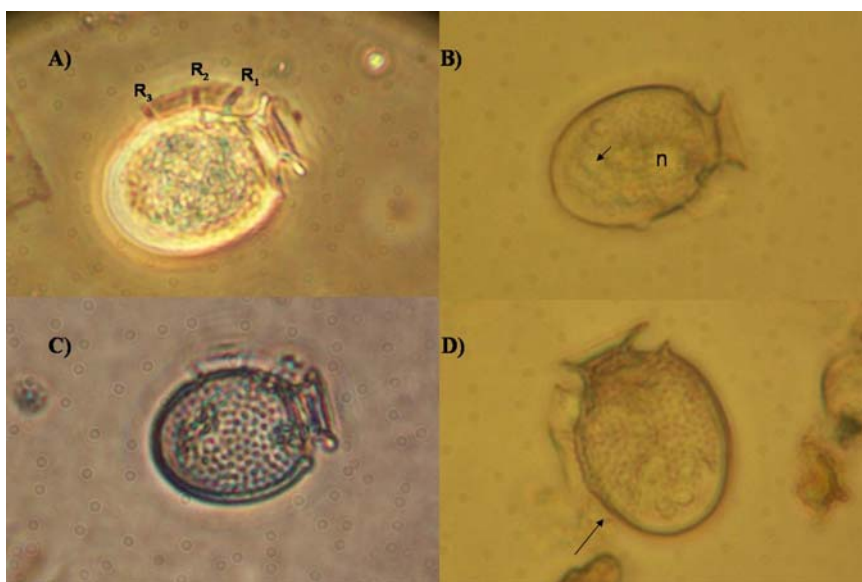
Nesta análise também foi utilizada a matriz transformada de concentrações de dinoflagelados. Executada no programa CANOCO for Windows. Como a análise baseia-se em distâncias euclidianas entre os objetos (amostras), que serão calculadas através da matriz transformada, na realidade ela utilizou-se da distância de Hellinger. Significância das variáveis previsoras (correlação fauna x variável física) é testada através de modelos de permutação de Monte Carlo (9999 permutações), através de rotina do CANOCO. Variáveis significativas foram selecionadas para o modelo final. Não significativas foram excluídas. Todas as amostras que apresentaram valores nulos foram excluídas das análises.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação das Espécies

Foram identificadas seis espécies de *Dinophysis* na área de estudo. As células que se apresentaram em visão dorsal foram tipadas como *Dinophysis* spp. apenas.

#### 4.1.1 *Dinophysis acuminata* (Claparède & Lachmann 1859)



**Figura 18.** *Dinophysis acuminata* exemplares de verão (dezembro de 2007), fotomicrografias em aumento de 400x. A) Variedade acuminata em microscopia de contrastes de fase, em evidência os três espinhos da aleta sulcal esquerda (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub>); B) Variedade lachmani em microscopia de campo claro, em detalhe vacúolos alimentares e n (núcleo); C) Variedade lachmani, teca vazia evidenciando a ornamentação regular da hipoteca com auréolas, microscopia de campo claro; D) Variedade lachmani, detalhe da região antapical retilínea na porção ventral. Fotos da autora.

**Sinônimos:** *Dinophysis borealis* Paulsen 1949; *Dinophysis lachmani* Paulsen 1949; *Dinophysis boehmii* Paulsen 1949; *D. acuminata* var. *granulata*? Jorgensen; *D. simplex* Böhm

**Tamanho:** Pequeno a mediano (38-58 µm).

**Forma:** Elíptica ou oval. Largura máxima da célula encontra-se no ponto médio do comprimento máximo.

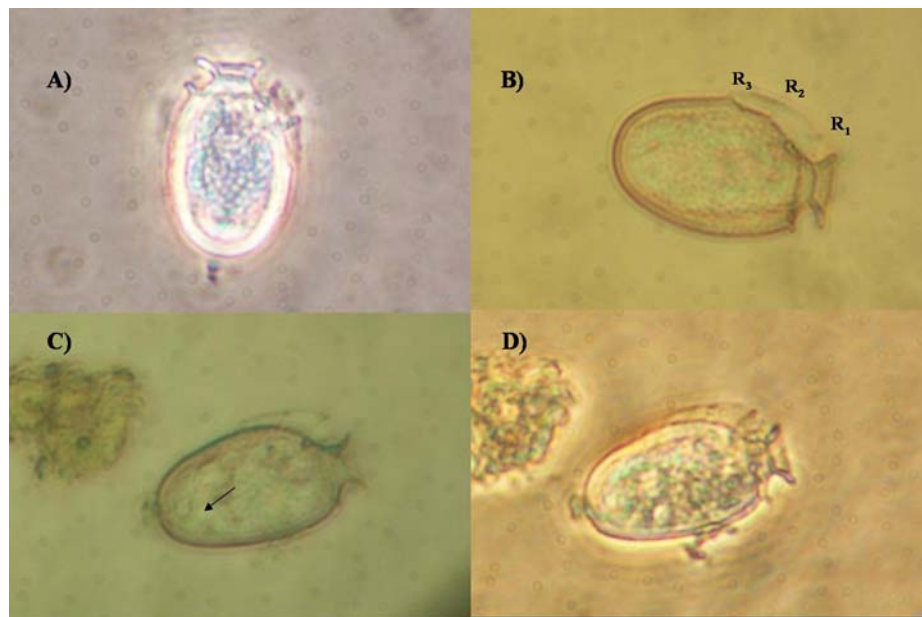
**Epiteca:** Pequena, em geral plana, ligeiramente convexa e baixa. Não foi visível quando a célula encontra-se em visão lateral.

**Hipoteca:** Corresponde a maior parte da célula. Região antapical levemente convexa, com a porção ventral retilínea (Figura 18, D). A região antapical é arredondada podendo apresentar de 2 a 4 nódulos (não encontrados nos exemplares analisados). A superfície da hipoteca tipo E, apresentou-se coberta por pequenas auréolas circulares com poros em quase todas (Figura 18, C).

**Aletas:** Aleta cingular anterior sem raios. Aleta sulcal esquerda bastante curta (em relação à hipoteca, localizada a cerca de 2/3 do comprimento máximo da hipoteca), com três raios pequenos (Figura 18, A). Aleta sulcal direita termina na altura da porção media entre R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub>.



A espécie apresentou grande variabilidade morfológica ao longo do período analisado. Na primavera e verão pode-se observar células bem desenvolvidas, repletas de vacúolos, provavelmente alimentares (Figura 18, B). Ao longo do outono e do inverno as células apresentaram menor largura, embora exemplares repletos de vacúolos também pudessem ser encontrados (Figura 19). *D. acuminata* é mixotrófica e pode, além de efetuar fotossíntese, se alimentar de protozoários ciliados como *Myrionecta rubra*. Nessa circunstância o conteúdo citoplasmático do protozoário é ‘sugado’ através de um pedúnculo alimentar, que se estende à partir da região sulcal do dinoflagelado, e é armazenado em vacúolos alimentares da microalga, conforme evidenciado no primeiro relato de cultivo para essa espécie (PARK et alii, 2006).



**Figura 19.** *Dinophysis acuminata* variedade *lachmani*, exemplares de inverno (julho de 2007), fotomicrografias em aumento de 400x. A) Célula em contraste de fase; B) Microscopia de campo claro evidenciando os três espinho (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub>) da aleta sulcal esquerda; C) e D) a mesma célula em campo claro e contraste de fase, em evidência vacúolos alimentares. Fotos da autora.

A espécie possui ampla distribuição latitudinal (macroescala) e ocorre principalmente em águas temperadas e frias dos oceanos Índico, Pacífico (Chile, Japão, Tasmânia, Nova Zelândia) e Atlântico (Uruguai, Argentina e África do Sul e toda a costa europeia). Também há relatos para os mares Mediterrâneo e Adriático (REGUERA, 2003).

Em águas brasileiras há relatos da presença de *D. acuminata* na região sudeste para o litoral do Rio de Janeiro nas baías de Sepetiba (VIANNA, 2003; FERREIRA, 2004), Ilha Grande (LOURENÇO, et alii 2007; MARINÉ, 2007) e Guanabara (BARBOZA, 1997; VILLAC; TENENBAUM, 2001); em São Paulo (VILLAC et alii, 2008; MOSER et alii, 2009) e no Espírito Santo (BASTOS; GARCIA, 2005). Na região sul a espécie foi relatada no Paraná (MAFRA-JUNIOR et alii, 2006; MACEDO, 2007), em Santa Catarina (SCHIMIT; PROENÇA, 2000; PROENÇA, 2004; PROENÇA, 2007) e no Rio Grande do Sul (PERSICH; GARCIA, 2003; FUJITA; ODEBRECHT, 2007; BASTOS, 2009a). Abundante em águas costeiras, especialmente em áreas eutróficas (TAYLOR et al., 1995).

#### 4.1.2 *Dinophysis caudata* (Saville-Kent 1881)



**Figura 20.** *Dinophysis caudata*. Célula em visão lateral (valva esquerda), microscopia de campo claro aumento de 200x. Detalhes taxonômicos: aca, aleta cingular anterior em forma de funil; seta, projeção antapical ventral.

**Sinônimo:** *Dinophysis homunculus* Stein 1883

**Tamanho:** Grande (70-110  $\mu\text{m}$ ). Normalmente menor que 105 $\mu\text{m}$ .

**Forma:** Apresenta na hipoteca apêndice em forma de cauda, bem definido e robusto, com espessura variável.

**Aletas:** Aleta cingular anterior com raios finos (Figura 20, aca). Aleta esquerda grande e esculpida, com três raios bem visíveis (Figura 20, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub>).

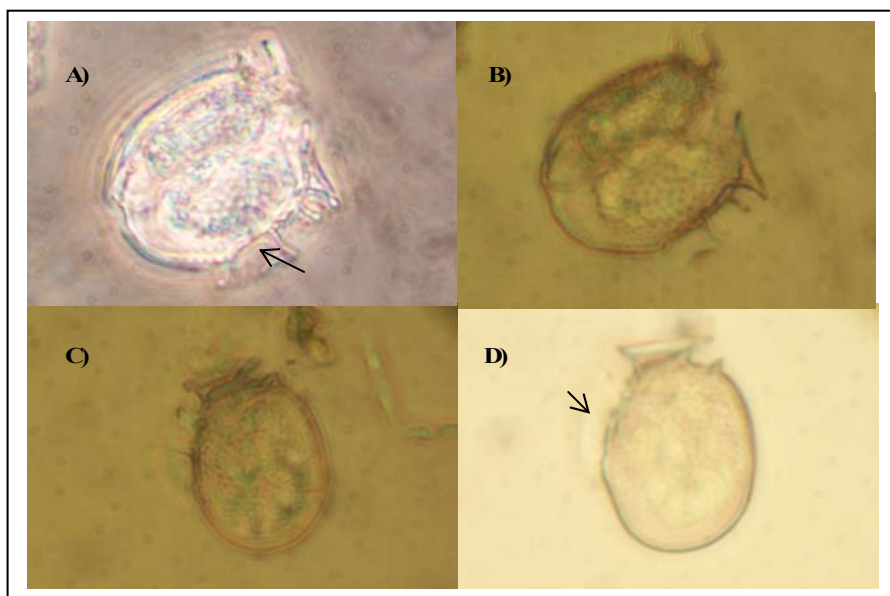
**Epiteca:** Baixa e achatada.

**Hipoteca:** Aproximadamente retilínea no início da região dorsal; na porção final da região dorsal suavemente convexa. Região ventral retilínea, ao término da aleta sulcal esquerda a hipoteca apresenta angulação de quase 90° em direção ao antapex. Apresenta apêndice em forma de cauda na porção ventral da região antapical (Figura 20, marcação com seta).

**Distribuição:** Espécie euritérmica e eurihalina. Predominantemente nerítica e de águas quentes.

Presente no litoral do Rio de Janeiro (VIANNA, 2003; FERREIRA, 2004), do Espírito Santo (BASTOS; GARCIA, 2005) e em São Paulo (VILLAC et alli, 2008). Para a região sul encontrada no Paraná (MACEDO, 2007), Santa Catarina (PROENÇA, 2004) e no Rio Grande do Sul (PERSICH; GARCIA, 2003; FUJITA; ODEBRECHT, 2007; BASTOS, 2009c). Também relatada para a região nordeste, no litoral de Pernambuco (ESKINASI-LEÇA et alii, 1972).

#### 4.1.3 *Dinophysis fortii* (Pavillard 1923)



**Figura 21.** *Dinophysis fortii* exemplares de verão, fotomicrografias em aumento de 400x. A) células pareadas, recém divididas em contraste de fase, de fevereiro, no detalhe porção final da aleta sulcal esquerda herdada pela célula filha; B) as mesmas células pareadas, recém divididas em microscopia de campo claro; C) exemplar de fevereiro; D) exemplar de dezembro, no detalhe região ventral retilínea. Fotos da autora.

**Sinônimos:** *Dinophysis intermedia* Pavillard 1916, *Dinophysis ovum* Schütt sensu Martin 1929

**Tamanho:** Médio (60-80  $\mu\text{m}$ ).

**Forma:** Célula sub-ovalada.

**Aletas:** Aleta cingular anterior sem raios. Aleta sulcal esquerda grande (cerca de 4/5 da hipoteca) com três espinhos. Na figura 21 (item B), vemos apenas dois espinhos porque a porção final da aleta sulcal esquerda foi herdada pela outra célula filha.

**Epiteca:** Achatada e não visível com a célula em visão valvar.

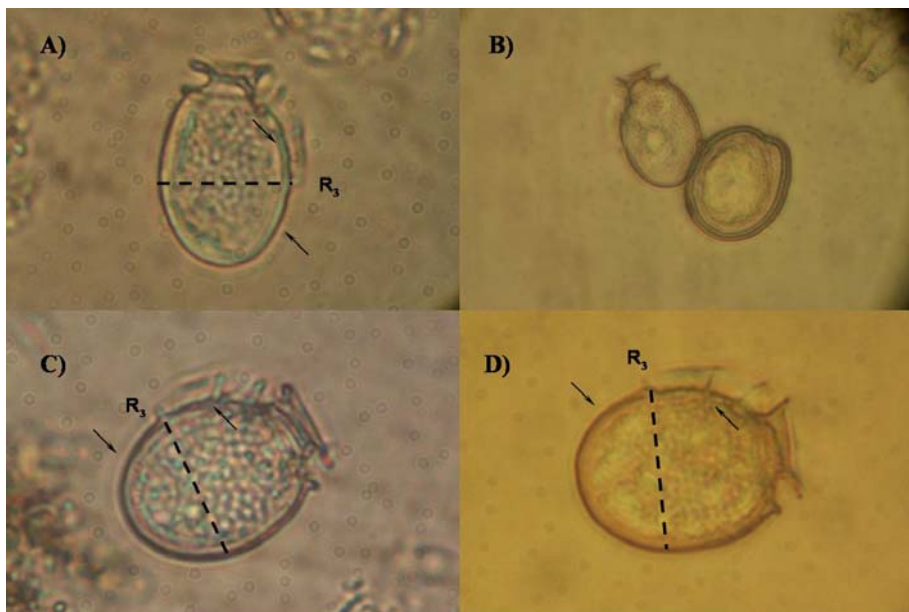
**Hipoteca:** Região ventral reta até a base do terceiro raio da aleta sulcal esquerda. Região dorsal suavemente convexa. Região antapical ampla e arredondada. Parte mais larga da célula localizada à cerca de 2/3 do comprimento total. Ornamentação da hipoteca do tipo E: com auréolas hexagonais marcadas com poros.

Cloroplastos presentes.

**Distribuição:** Águas temperadas. É rara no sul do Brasil, mas frequente ao norte em águas mais quentes (BALECH, 2002). Segundo Reguera (2003) espécie nerítica e oceânica. Possui ampla distribuição em mares temperados e frios (Pacífico: Japão, Austrália, Tasmânia, Califórnia; Atlântico: Brasil e península Ibérica; Mediterrâneo).

Encontrada no Rio de Janeiro na baía de Sepetiba (FERREIRA, 2004) e na baía de Ilha Grande (MARINÉ, 2007). Também no Rio Grande do Sul (BASTOS, 2009f).

#### 4.1.4 *Dinophysis ovum* (Schütt 1895)



**Figura 22.** *Dinophysis* cf. *ovum*, setas indicam áreas de convexidade na região ventral e antapical, linhas tracejadas a parte mais larga da célula na altura de  $R_3$ . Exemplares de verão. A) Fotomicrografia em contraste de fase no aumento de 400x; B) Fotomicrografia em campo claro no aumento de 200x; C) Fotomicrografia em contraste de fase no aumento de 400x; D) Microscopias em campo claro, aumento de 400x. Fotos da autora.

**Tamanho:** pequeno, comprimento de 44-62 $\mu\text{m}$  e largura de 38-45 $\mu\text{m}$ .

**Forma:** Em visão lateral apresenta forma ovalada, mais regular que *D. acuminata*. Mais estreita na região apical do que na antapical.

**Aletas:** Aletas cingulares não possuem raios. Aleta sulcal direita apresenta contorno suave e termina na base do segundo raio ( $R_2$ ) da aleta sulcal esquerda.

**Epiteca:** Pequena, não visível quando a célula posiciona-se lateralmente.

**Hipoteca:** Contorno da região ventral até o terceiro raio é suavemente convexo (enquanto que em *D. acuminata* é anguloso). À partir do terceiro raio da aleta sulcal esquerda o contorno é aproximadamente arredondado. A região dorsal é acentuadamente mais convexa que a região ventral. A porção mais larga da célula dá-se na altura do terceiro raio da aleta sulcal esquerda ( $R_3$ ) ou um pouco mais abaixo (Figura 22, linhas tracejadas em A, C e D). Teca ornamentada com auréolas.

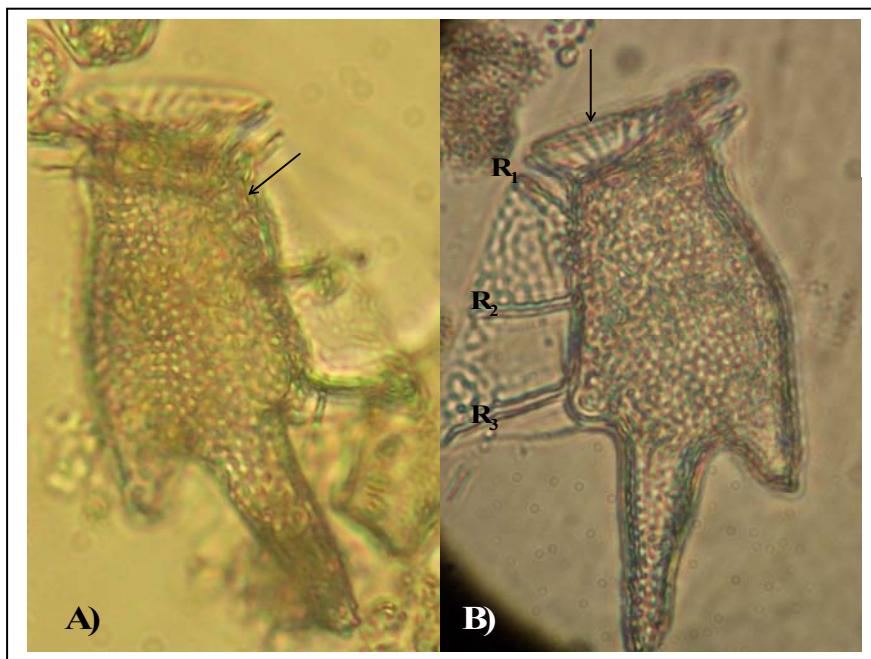
**Distribuição:** Espécie típica de águas subtropicais quentes. Encontrada nos mares Mediterrâneo, Adriático e no oceano Atlântico (costa inglesa e espanhola), segundo Raho et alii (2008).

Possui plastídios de coloração dourada.

Não foram encontrados relatos anteriores para essa espécie no litoral brasileiro.

Essa espécie encontra-se relacionada ao 'complexo *Dinophysis acuminata*', ou seja, faz parte de um conjunto de espécies com morfologia muito semelhante à *D. acuminata* e que comumente são identificadas equivocadamente. Tais espécies (*D. ovum*, *D. sacculus*, por exemplo) geralmente ocorrem em populações muito reduzidas, o que dificulta mais ainda sua identificação. Na maioria das vezes ocorrem como espécies crípticas.

#### 4.1.5 *Dinophysis tripos* (Gourret 1883)



**Figura 23.** *Dinophysis tripos*, exemplares de primavera, fotomicrografias em aumento de 200x. A) Célula recém-dividida, microscopia de campo claro, em detalhe a pequena aleta sulcal direita, notar que a microalga possui apenas a porção final da aleta sulcal esquerda; B) Célula recém-dividida, porção final da aleta sulcal esquerda regenerada, porém ainda sem reticulação, assinalados os três grandes espinhos que sustentam a aleta, seta assinala a aleta cingular anterior, com seus raios. Fotos da autora.

**Tamanho:** Grande (90-125  $\mu\text{m}$ ).

**Forma:** Possui duas projeções antapicais alongadas, uma anterior curta (ventral) e outra posterior (dorsal) mais longa.

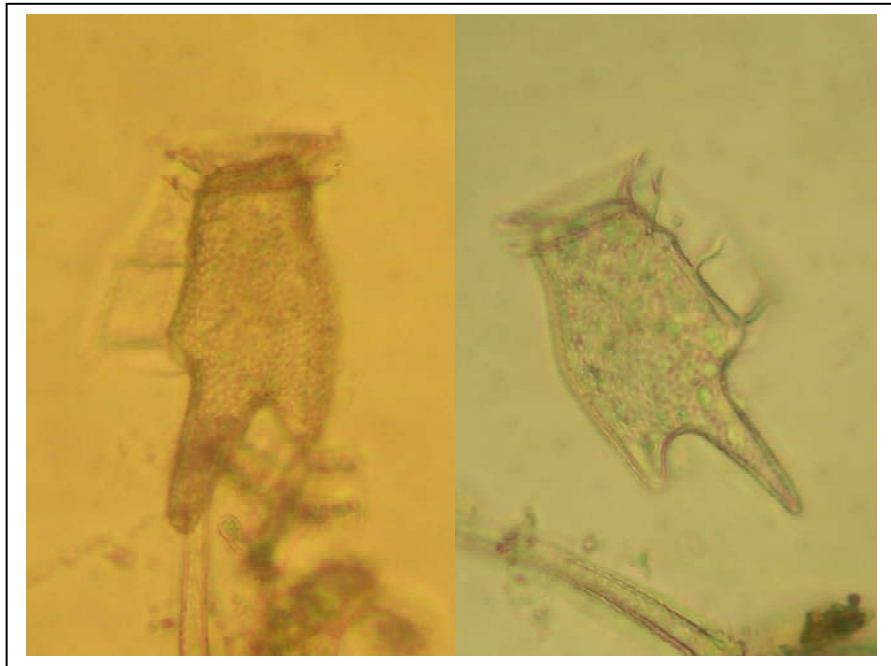
**Aletas:** Aleta cingular anterior com muitas estrias (Figura 23, B), formando um funil com uma pequena epiteca no fundo. Aleta sulcal esquerda longa, podendo chegar até a base da projeção posterior (ventral), com os três raios bem evidentes (Figura 23, B). Aleta sulcal direita pequena.

**Epiteca:** De tamanho pequeno, retilínea. Não é visível lateralmente.

**Hipoteca:** Apresenta grande tamanho. Inicialmente a região dorsal é côncava e depois se torna suavemente convexa. Apresenta na região antapical duas projeções bem evidentes: uma dorsal, de menor tamanho, e outra ventral muito bem desenvolvida (Figura 24). Deve-se ter cuidado ao observar a projeção dorsal, pois se o morfotipo a apresentar muito reduzida pode ser confundido com *D. caudata*.

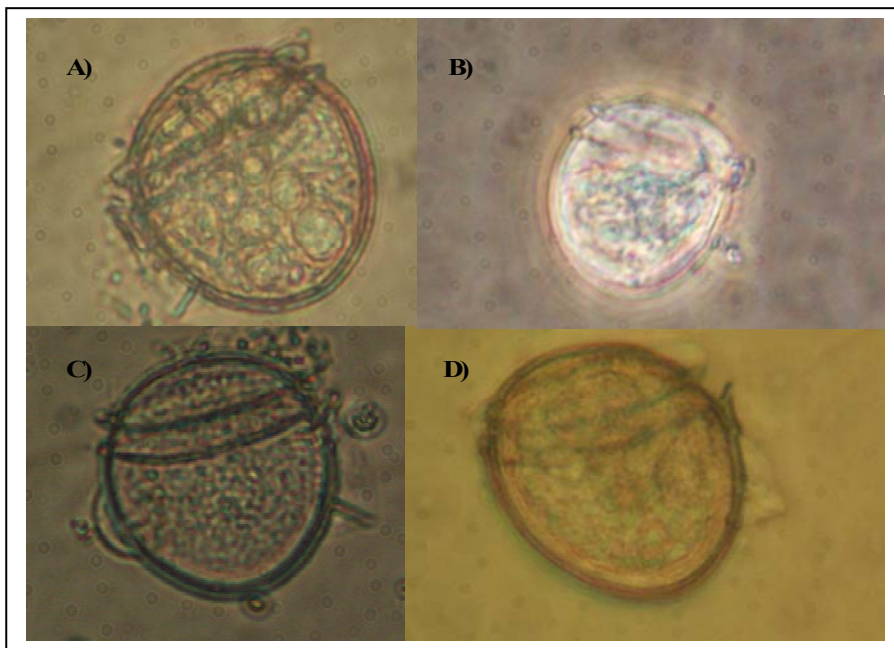
**Distribuição:** Águas temperadas e tropicais, ocasionalmente em águas frias. Presente no sul do Brasil (BALECH, 1988 citado por BALECH, 2002).

Encontrada na baía de Sepetiba (VIANNA, 2003; FERREIRA, 2004) e na baía de Ilha Grande (MARINÉ, 2007). Presente em São Paulo (MOSER et alii, 2005; VILLAC et alii, 2008).



**Figura 24.** *Dinophysis tripos* exemplares de verão, fotomicrografias em campo claro, aumento de 200x. Fotos da autora.

#### 4.1.6 *Dinophysis rotundata* (Claparède & Lachmann 1859)



**Figura 25.** *Dinophysis rotundata* fotomicrografias em aumento de 400x. A) exemplar de outono, célula plena de vacúolos alimentares; B) exemplar de inverno; C) exemplar de primavera; D) exemplar de verão, presença de vacúolos alimentares porém menos evidentes. Todas as fotomicrografias em campo claro exceto B) contraste de fase. Notar em todas as fotos a epiteca convexa. Fotos da autora.

**Sinônimo:** *Phalacroma rotundatum* (Claparède & Lachmann) Kofoid & Michener 1911; *Dinophysis whittingae* Balech, 1971.

**Tamanho:** De pequena à mediana (36-56  $\mu\text{m}$ ).

**Forma:** Elíptica, quase circular (Figura 25).

**Epiteca:** Embora baixa, é nitidamente convexa e mais alta que das outras espécies.

**Hipoteca:** Ornamentação do tipo A: auréolas pequenas com poros em um de cada 5-10 auréolas. A largura máxima a hipoteca encontra-se na altura entre o segundo e o terceiro raio da aleta sulcal esquerda.

**Aletas:** Aletas cingulares lisas e quase horizontais. Aleta sulcal estreita, com três raios (o segundo localizado bem próximo ao primeiro).

**Ausência de cloroplastos.**

Essa espécie foi a primeira onde observou-se o processo de mizocitose, isto é, a capacidade apresentada por *D. rotundata* de alimentar-se predando um ciliado (*Tiarina fusus*) através de pedúnculo alimentar (HANSEN, 1991). Nessa situação a microalga mostra-se plena de vacúolos alimentares, repletos do conteúdo citoplasmático do ciliado.

Presente em na baía de Sepetiba, Rio de Janeiro (FERREIRA, 2004). Também descrita para o litoral de São Paulo (VILLAC et alii, 2008).

#### 4.2 Distribuição Espacial e Temporal de *D. acuminata*

*Dinophysis acuminata* foi a espécie mais frequente e abundante do gênero *Dinophysis* ao longo de todo o período estudado na ilha Guaíba. Tal fato encontrou-se de acordo com o já relatado por Ferreira (2004) para a mesma região, no período de primavera e verão de 2003/2004. Vianna (2003) também relatou a espécie como tendo a maior abundância relativa (em relação ao gênero *Dinophysis*) na mesma região na primavera de 2001 e no outono de 2002.

Ainda para o litoral do Rio de Janeiro a espécie já foi encontrada na baía de Ilha Grande, porém em abundância tão baixa tanto, no outono de 2004, que a espécie somente foi detectada em amostras concentradas de rede, ocorrendo em abundâncias abaixo do limite de detecção para a garrafa van-dorn (LOURENÇO et alii, 2007). Foi modificada a metodologia de coleta e na primavera/verão de 2006 Mariné (2007), com auxílio de bomba submersa conseguiu, em amostra concentrada de 90 litros de água do mar, quantificar *D. acuminata* em  $<10 \text{ células} \cdot 2\text{l}^{-1}$ .

Para o estado de São Paulo a espécie foi relatada por Villac et alii (2008) em um trabalho que compilou registros do fitoplâncton de todo o litoral paulista nos últimos 100 anos; no entanto não há registros acerca da frequência e abundância desta espécie, apenas foi relatada sua presença. MOSER et alii (2009) em estudo realizado na baía de Santos focando microalgas nocivas encontraram incremento na população de *Dinophysis* cf. *acuminata* por ocasião de um grande aporte pluvial continental que intensificou a condição de baixa mistura turbulenta da coluna d'água.

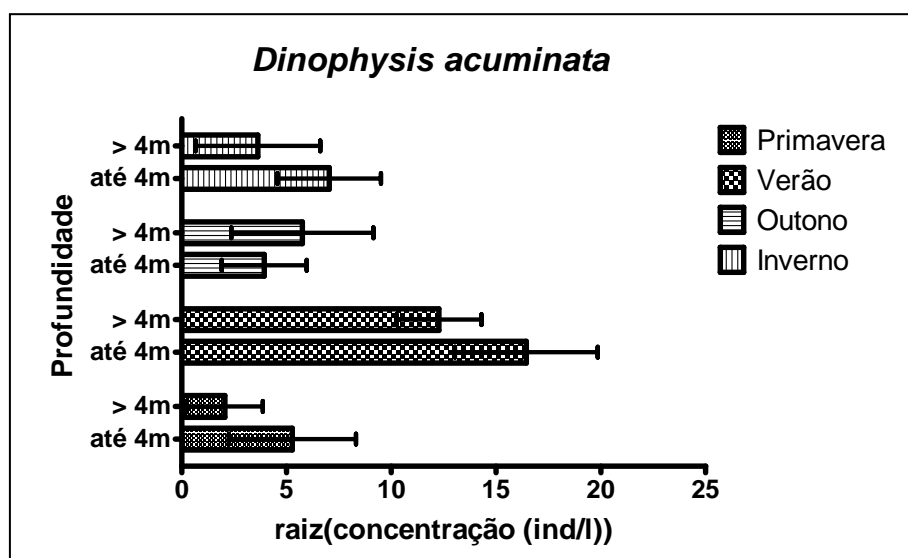
Para o sul do Brasil *D. acuminata* encontra-se relatada como a principal espécie do gênero no estado de Santa Catarina, tendo inclusive formado intensa floração pela primeira vez em águas brasileiras em janeiro de 2007 (PROENÇA et alii, 2007). No Rio Grande do Sul *D. acuminata* foi associada à mortandade de organismos bentônicos (PERSICH; GARCIA, 2003) e foi encontrada em amostras de primavera e verão na lagoa dos Patos (FUJITA; ODEBRECHT, 2007), novamente não foram relatadas informações pertinentes à sua abundância e frequência apenas a presença.

A espécie é a mais amplamente difundida do gênero *Dinophysis*, sendo encontrada desde águas do Atlântico norte: na Noruega e Finlândia (SETÄLÄ et alii, 2005), é a mais abundante na costa ocidental da Europa (KAT, 1983; JOHANSSON et alii, 1996; REGUERA, 2002; KLÖPPER et alii, 2003; XIE et alii, 2007; RAHO et alii, 2008) e também na América do Norte (CEMBELLA, 1989); no mar Mediterrâneo (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004; AUBRY et alii, 2005; MARASOVIC et alii, 2007; REIZOPOLOU et

alii, 2008), ocorre em todo o cone sul americano (BALECH, 2002; BLANCO et alii, 2007b), na Nova Zelândia (BURNS; MITCHEL, 1982; MACKENZIE et alii, 2005), no mar Branco da Rússia (VERSHININ et alii, 2006), na China (LIU; MINGJIANG, 2004; LU; RODGKISS, 2004) e no Japão (HOSHIAI et alii 2002; NISHITANI et alii, 2002; NISHITANI et alii, 2005; ADACHI et alii, 2008).

A análise de variância realizada para verificar se houve diferença significativa na densidade de *Dinophysis acuminata* ao longo de cada metro da coluna d'água (de 8 metros de profundidade) revelou a existência apenas de dois estratos: 0 à 4 metros e abaixo de 4 metros. Tal fato coincidiu com observações realizadas em campo que sugeriram a presença de maior ação hidrodinâmica da corrente de maré em torno dos 4 metros de profundidade (dados não apresentados na tese). Dentro de cada um desses estratos não houve diferença significativa na densidade dos indivíduos amostrados por litro de água do mar (Figura 26).

A variação na ocorrência de *D. acuminata* foi significativa em relação à estação do ano ( $p < 0.0001$ ) e constituiu a principal fonte de variabilidade (49,05% da variância dos dados). A diferença entre o Verão e demais estações foi significativa ( $p < 0,001$ ). A diferença entre as demais estações, entretanto, não foi significativa.



**Figura 26.** Variação da densidade celular de *Dinophysis acuminata* em relação à profundidade (estratos) e às estações do ano. Dados transformados.

*Dinophysis acuminata* apresentou maiores densidades celulares (densidade média para a estação do ano) no estrato de 0-4 metros no inverno (63 células.l<sup>-1</sup>), na primavera (46 células.l<sup>-1</sup>) e no verão (297 células.l<sup>-1</sup>) do que para o estrato >4metros: 33 células.l<sup>-1</sup>, 12 células.l<sup>-1</sup> e 160 células.l<sup>-1</sup>, inverno, primavera e verão respectivamente. Apenas para o outono o estrato >4 metros apresentou-se com maior abundância com 57 células.l<sup>-1</sup>, contra 24 células.l<sup>-1</sup> para o estrato 0-4 metros.

No entanto somente durante o verão houve diferença significativa na abundância para os diferentes estratos. Para as demais estações as diferenças não foram significativas estatisticamente. Tais dados significam que *D. acuminata* apresentou maior abundância no estrato superior da coluna d'água durante o verão (Dezembro com 192 células, Janeiro com 343 células e Fevereiro com 355 células por litro de água do mar) do que no estrato inferior (Dezembro com 78 células, Janeiro com 243 células e Fevereiro com 160 células por litro de água do mar).



E que *D. acuminata* foi capaz apenas apresentar distribuição diferenciada em relação à profundidade durante o verão, sendo mais abundante no estrato superior da coluna d'água. Nas demais estações do ano essa diferença na abundância não foi significativa estatisticamente. A variação decorrente da profundidade foi responsável por 3,35% da variância total dos dados ( $p=0.0118$ ). A interação entre ambos os fatores (variação entre estratos relacionada à estação do ano) não foi significativa ( $p=0.07$ ), tendo sido responsável por 3,7% da variância total dos dados.

No estrato de 0-4m o valor máximo de abundância relativa encontrado ocorreu durante o verão, no mês de fevereiro, e foi de 355 células.l<sup>-1</sup> (Tabela 01), valor considerado na literatura como uma abundância baixa (LINDHAL et alii, 2007). O valor mínimo ocorreu na primavera, no mês de outubro, com abundância relativa de 8 células.l<sup>-1</sup>. Para o estrato de >4m o valor máximo de abundância também ocorreu no verão, no mês de janeiro, com 243 células.l<sup>-1</sup>. E o valor mínimo foi de 3 células.l<sup>-1</sup>, na primavera (mês de novembro). A espécie não foi detectada nos meses de março e outubro para este estrato (Figura 27).

O verão tem sido relatado como a estação do ano que propicia incremento à populações dessa espécie de dinoflagelado em mares de todo o mundo. Normalmente na baía de Ise (Japão) *D. acuminata* ocorre no verão em densidades de 300 células por litro de água do mar (NISHITANI et alii, 2005). Na Grécia as abundâncias relativas comumente registradas para a espécie oscilam em torno de 300-600 células.l<sup>-1</sup> (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004).

Altas abundâncias também foram registradas no verão: no Japão 4200 células.l<sup>-1</sup> (NISHITANI et alii, 2005), no mar do Norte na costa germânica exibindo mais de 4000 células.l<sup>-1</sup> (KLÖPPER et alii, 2003), na costa da Grécia com 5000 células.l<sup>-1</sup> (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004). No Brasil já foram relatadas 4600 células.l<sup>-1</sup> para o litoral do Paraná (MAFRA-JR et alii, 2006).

**Tabela 01.** Distribuição e abundância de *Dinophysis acuminata*. Comparação entre resultados encontrados pelo presente trabalho (FERREIRA, 2009) e registros da literatura consultada.

<b>Baixa abundância relativa: centenas de células.l<sup>-1</sup></b>				
<b>Autores</b>	<b>Ferreira, 2009</b>	Delmas et alii, 1992 ( <i>in shore</i> )	Nishitani et alii, 2005	Koukaras; Nikolaidis, 2004
<b>Densidade celular</b>	355 células.l <sup>-1</sup>	400 células.l <sup>-1</sup>	300 células.l <sup>-1</sup>	300-600 células.l <sup>-1</sup>
<b>Estação</b>	verão	verão	verão	verão
<b>Profundidade</b>	0-4 metros	-	0-3 metros	-
<b>ΔT</b>	2-3°C	-	-	-
<b>Local</b>	Ilha Guaíba, RJ Brasil	França	Baía de Ise, Japão	Mar de Termaikos, Grécia
<b>Altas abundâncias relativas: milhares de células.l<sup>-1</sup></b>				
<b>Autores</b>	Mafra-Jr et alii, 2006	Delmas et alii, 1992 ( <i>offshore</i> )	Klöpper et alii, 2003	Koukaras; Nikolaidis, 2004
<b>Densidade celular</b>	4600 células.l <sup>-1</sup>	1500 células.l <sup>-1</sup>	4000 células.l <sup>-1</sup>	5000 células.l <sup>-1</sup>
<b>Estação</b>	verão	verão	verão	verão
<b>Profundidade</b>	-	10-15 metros	-	-
<b>ΔT</b>	-	3,5-5°C	-	-
<b>Local</b>	Paraná, Brasil	França	Mar do Norte, Alemanha	Mar de Termaikos, Grécia

Continuação da Tabela 01.

Florações: dezenas de centenas de células.l <sup>-1</sup>				
Autores	Proença et alii, 2007	Setälä et alii, 2005	Hoshiai et alii, 2002	Koukaras; Nikolaidis, 2004
<b>Densidade celular</b>	52000 células.l <sup>-1</sup>	18000 células.l <sup>-1</sup>	88000 células.l <sup>-1</sup>	85400 células.l <sup>-1</sup>
<b>Estação</b>	verão	verão	verão	verão
<b>Profundidade</b>	-	77 metros	-	-
<b>ΔT</b>	-	-	-	-
<b>Local</b>	Santa Catarina, Brasil	Mar Báltico, Finlândia	Japão	Mar de Termaikos, Grécia

- Ausência de informação na literatura consultada.

Embora florações de *Dinophysis* spp. sejam eventos raros, o verão é o período mais propenso à sua ocorrência. Por exemplo, florações de *D. acuminata* foram relatadas para o litoral do Japão com 88000 células.l<sup>-1</sup> (HOSHIAI et alii, 2002); na Grécia com 57000 e 85400 células.l<sup>-1</sup>, tendo a última floração durado mais de 4 meses (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004); na Finlândia com 38000 células.l<sup>-1</sup> (LINDAHL et alii, 2007), na Austrália com 20800 células.l<sup>-1</sup> (MADIGAN et alii, 2006). No Brasil, na costa de Santa Catarina recentemente houve o primeiro relato de floração para essa espécie de dinoflagelado (Proença et alii, 2007). Nesse evento a microalga apresentou densidade celular máxima de 52000 células por litro de água do mar, o máximo já relatado para o litoral brasileiro.

Para as demais estações do ano relata-se que *D. acuminata* apresente densidade celular muito baixa, como por exemplo, cerca de 40-120 células.l<sup>-1</sup> para as águas da baía de Termaykos, na Grécia (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004). Dados que encontram-se de acordo com as baixas abundâncias encontradas no presente trabalho para as estações de outono, inverno e primavera (Figura 27).

Importante salientar que mesmo com a presença de poucas centenas de células *Dinophysis* podem produzir toxinas diarréicas suficientes para gerar casos de EDM (REGUERA, 2002), conforme pode ser observado na costa germânica (KLÖPER et alii, 2003). Quando a contagem de células chega ao patamar de 400 células por litro de água do mar recomenda-se aumentar a frequência amostral e permanecer alerta para a ocorrência de uma floração. A adoção de tal procedimento possibilitou a pronta e correta tomada de decisão durante a floração de *D. acuminata* ocorrida no litoral catarinense em 2007, que evitou um impacto das toxinas diarréicas para a saúde pública na região de maiores proporções. O aleta foi dado dia 17 de janeiro de 2007 e a floração ocorreu poucos dias após, em 30 de janeiro. Houve suspensão da comercialização de moluscos, pois o bioensaio revelou a presença de toxinas diarréicas. Poucos casos foram relatados (cerca de 150) devido ao correto e rápido procedimento adotado, lembrando que o surto ocorreu em uma área turística durante o período de férias (PROENÇA et alii op. cit.).

Na literatura há relatos de vários trabalhos que demonstram a formação de adensamentos de *Dinophysis acuminata* em uma determinada profundidade, geralmente em colunas d'água submetidas à forte estabilidade, quer seja devido à um gradiente térmico ( $\Delta T > 5^\circ \text{C}$ ) ou salino, e cuja estabilidade dure ao menos duas semanas (DELMAS et alii, 1992).

Nas Rias Baixas da Galícia Reguera et alii (1995) relataram a formação de adensamento para outra espécie de *Dinophysis*, *D. acuta*, localizada sobre a termoclina durante uma persistente floração desde o início do verão até meados da primavera que atingiu o máximo de 23000 células.l<sup>-1</sup>. Nessa mesma região, durante o verão *D. acuminata* atingiu o

patamar de 2800 células.l<sup>-1</sup>, no estrato entre 0-5 metros de profundidade. Essa coluna d'água encontrou-se submetida à fraca mistura turbulenta (mencionada na literatura consultada forte como estratificação térmica).

Setälä et alii (2005) relataram a formação de um adensamento, localizado à 77 metros, de *D. acuminata* em uma coluna d'água de 120 metros de profundidade, submetida à condições de baixa mistura turbulenta (citada na literatura como fortemente estratificada) (termoclina sazonal localizada entre 17-20 metros) durante o verão no mar Báltico, Finlândia. Tal adensamento apresentou densidade celular de 18000 células.l<sup>-1</sup>.

Por exemplo, no Japão *D. acuminata* costuma agregar-se na profundidade de 3 metros, em uma coluna d'água sujeita à condições de baixa mistura turbulenta (em função da temperatura) na baía de Matsuru, apresentando o máximo de densidade celular 708 células.l<sup>-1</sup> (NISHITANI et alii, 2002). Da mesma maneira na baía de Sepetiba (ambiente costeiro, abrigado) observou-se comportamento semelhante onde *D. acuminata* apresentou maior abundância no estrato superior da coluna d'água (0-4 metros).

Delmas et alii (1992) estudaram a distribuição vertical de *D. acuminata* em dois locais: um costeiro (*inshore*) na isóbata de 10 metros e outro localizado sobre a isóbata de 50 metros (*offshore*). A maior abundância foi observada no final da primavera. Poucas células foram detectadas na estação *inshore* enquanto que *offshore* foi observada a maior densidade celular para a espécie (15 x 10<sup>3</sup> células por litro) entre 10-15 metros de profundidade. Portanto a região da termoclina, ao funcionar como uma barreira de densidade, tanto propicia o acúmulo de células sobre essa região, quanto também propicia seu desenvolvimento “*in situ*” por ser uma região rica em nutrientes (orgânicos e inorgânicos) e provavelmente também rica nas presas preferenciais de *Dinophysis*. Somente na estação *offshore* ocorreu baixa mistura turbulenta (citada na literatura como estratificação da coluna d'água) devido a forte gradiente térmico ( $\Delta T = 3,5 - 5,5^\circ C$ ). Na estação *inshore* as correntes de maré e a pouca profundidade impediam a formação da estratificação térmica, caracterizando essa estação como uma coluna d'água submetida à intensa mistura turbulenta. O desenvolvimento dessa floração de *D. acuminata* deu-se desde o final de abril (onde havia cerca de aproximadamente 400 células), apresentou um incremento no início de maio (1000-5000 células) e culminou com o máximo de densidade celular relatado para o final de maio. No início de junho fortes ventos romperam a condição de estabilidade, ao misturar a coluna d'água; como consequência a floração de *Dinophysis* dispersou-se paulatinamente ao longo dos próximos dez dias nas estações *offshore*.

Lindhal et alii (2007) compararam a densidade celular de *D. acuminata* em dois diferentes fiordes, um costeiro e outro mais exposto à processos *offshore*. O ambiente mais costeiro apresentou, sempre entre o verão e outono, densidades celulares baixas (< 300 células.l<sup>-1</sup>), atingindo um patamar máximo de 1200 células.l<sup>-1</sup> no meio do outono. Porém no fiorde mais exposto foram relatadas no verão densidades celulares maiores, 2000 células sobre a picnoclina e 6000-28000 células à 20 metros. No final do verão houve floração com o máximo de 38000 células.l<sup>-1</sup> sobre a picnoclina. Foi relatado que *D. acuminata* significativamente ocorreu em maiores densidades sobre a picnoclina se comparado às suas densidades na superfície e no fundo.

Na ilha Guaíba, ambiente raso e costeiro, durante quase todo o ano a coluna d'água manteve-se isotérmica. Apenas no verão apresentou suave gradiente térmico em dezembro ( $\Delta T = 3^\circ C$ ) em fevereiro ( $\Delta T = 2^\circ C$ ), conforme visto na Figura 31. No entanto o  $\Delta T$  não foi suficientemente alto e constante para caracterizar uma situação de mistura turbulenta baixa (estratificação térmica conforme definido por Delmas et alii, 1992). Tanto que essa variável hidrológica não contribuiu significativamente para o modelo multivariado resultante utilizado

para explicar a influência dos fatores abióticos sobre os padrões de distribuição de *Dinophysis*, na ilha Guaíba para o período estudado. Tão importante quanto à estabilidade da coluna d'água em relação à mistura turbulenta é a duração dessa condição de estabilidade. Ao longo dos meses de janeiro e fevereiro de 2008 sucessivos sistemas frontais, intensificados por zonas de convergência subtropical, exerceram sua influência ao passarem pelo litoral sul do estado do Rio de Janeiro. Dessa forma a duração mínima das condições de estabilidade, 2 semanas conforme o relatado por Delmas et alii (1992), não pode ser desenvolvida na região estudada.

**Tabela 02.** Densidades celulares de *Dinophysis acuminata* ao longo da coluna d'água e dos meses amostrados. Valores em células.l<sup>-1</sup>.

	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7m	8m
<b>Dezembro</b>	420	210	90	50	50	110	90	60
<b>Janeiro</b>	250	240	280	600	280	270	260	160
<b>Fevereiro</b>	260	650	180	330	180	150	150	160
<b>Março</b>	10	0	0	30	0	0	20	0
<b>Abril</b>	SD	41	60	70	90	210	190	140
<b>Mai</b>	20	20	0	10	0	30	10	10
<b>Junho</b>	30	30	20	30	30	10	0	10
<b>Julho</b>	20	40	10	20	60	0	0	0
<b>Agosto</b>	170	130	30	230	150	140	0	0
<b>Setembro</b>	60	SD	30	0	70	30	10	20
<b>Outubro</b>	20	0	10	0	0	0	0	0
<b>Novembro</b>	220	80	50	40	0	0	10	0

Posteriormente para regiões costeiras, descritas anteriormente em trabalhos consultados como *inshore*, Delmas et alii (1993) propuseram que as populações de *Dinophysis* desenvolvidas em mar aberto (em condições de estabilidade já descritas em Delmas et alii, 1992) seriam carreadas em direção à costa por correntes de maré.

Foi montado um experimento para a verificação da produção de toxinas diarréicas e também realizadas todas as coletas de *Perna perna* concomitantes às coletas de fitoplâncton. O objetivo deste experimento era verificar a variação temporal da presença do AO e buscar sua relação com *Dinophysis acuminata* (anteriormente já associada ao AO na ilha Guaíba por Ferreira, 2004). Porém, por questões operacionais não foi possível atingir este objetivo.

Mas, conforme situação descrita por Klöper et alii (2003) mesmo em baixas abundâncias *Dinophysis* spp. oferecem perigo à saúde pública. *Dinophysis acuta* esteve presente em abundância de 50 células e *D. norvegica* em torno de 100 células por litro de água do mar e, mesmo assim, foram capazes de produzir uma concentração de cerca de 140-190 ng de toxinas diarréicas. g<sup>-1</sup> de glândula digestiva de molusco *Mytilus edulis* em junho de 2000 na costa da Alemanha.

Esse exemplo ilustra o relatado por Reguera (2002) que poucas centenas de *Dinophysis* presentes em um litro de água do mar podem produzir toxinas diarréicas em quantidade suficiente para gerar casos de EDM, mesmo em baixas densidades celulares como o verificado para a ilha Guaíba ao longo de 2007/2008 pelo presente trabalho. Tal fato foi elucidado Lindahl et alii (2007) que verificaram o conteúdo intracelular de toxinas diarréicas em diferentes populações de *D. acuminata* e constataram que moluscos que se alimentaram de cerca de 100 células de alto potencial toxígeno contaminaram-se da mesma maneira que outros alimentados com 1500 células com baixo potencial toxígeno. Na Austrália o Plano de Manejo de Biotoxinas considera como Nível de Alerta a ocorrência de 1000 células de *D. acuminata* por litro de água do mar (BROWN; TURNBULL, 2008).

Dessa forma saliento a necessidade de que se continue a estudar *Dinophysis* spp. não apenas em sua variação espacial e temporal na ilha Guaíba. Mas, sobretudo seu perfil toxígeno e os fenômenos que ocorrem em mesoescala que, conforme amplamente relatado na literatura, influenciam em sua distribuição para toda a região sudeste e conseqüentemente para o litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Fica registrada a situação potencial de perigo para a saúde pública dos consumidores de molusco em toda a região. Como não pode ser constatada a presença das toxinas diarréicas em moluscos cultivados na ilha Guaíba, reitero a necessidade da implementação de um programa de monitoramento higiênico-sanitário no litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

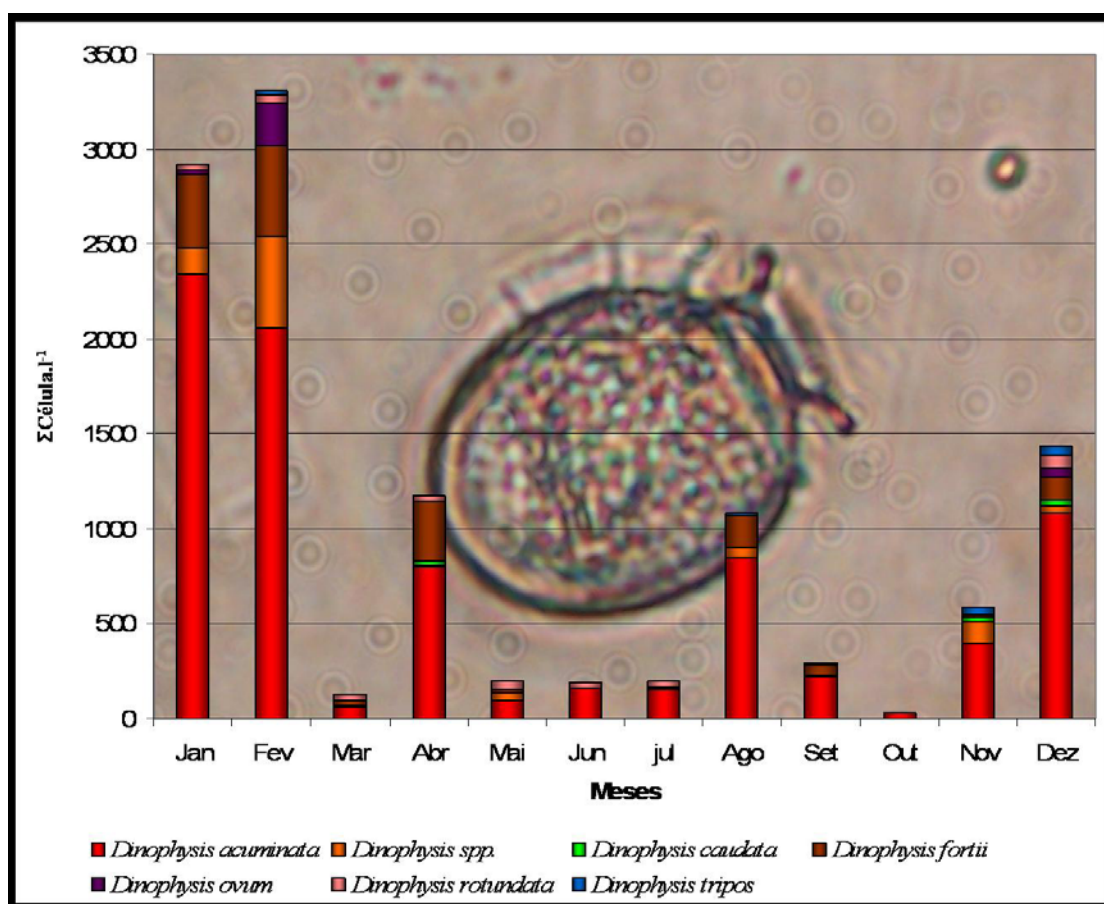
### 4.3 Distribuição Espacial e Temporal das Demais Espécies de *Dinophysis*

*D. fortii* foi a segunda espécie mais abundante na ilha Guaíba durante o período analisado (Figura 28). Ocorreu em todo o ano, exceto no mês de junho e outubro de 2007. Foi mais abundante durante os meses de verão (58 células.l<sup>-1</sup> no estrato de 0-4 metros; 25 células.l<sup>-1</sup> no estrato de >4 metros), uma abundância extremamente baixa se comparada à literatura. Relatada anteriormente para o Rio de Janeiro na baía de Sepetiba (FERREIRA, 2004) e na baía de Ilha Grande (MARINÉ, 2007). Também já foi identificada no Rio Grande do Sul (BASTOS, 2009f). Espécie tipicamente dominante no Japão sozinha (IWASAKI, 1986) ou acompanhada por *D. acuminata* no Japão (NISHITANI et alii, 2002; ADACHI et alii, 2008). É muito abundante no Japão, onde um máximo de 700 células foi detectado à 24 metros de profundidade; essa espécie foi a primeira a ser descrita como produtora de toxinas diarréicas (YASSUMOTO, 1980). Hoshiai et alii (2003) relataram *D. fortii* como uma espécie tipicamente oceânica que é carregada pela corrente marinha quente Tushima para a região costeira do norte do Japão durante a primavera e o verão; durante esse período sua abundância raramente excede 100 células por litro de água do mar. Na Europa também foi relatada sempre em baixas abundâncias, na Espanha (REGUERA et alii, 1995), na Grécia (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004), Croácia (MARASOVIC et alii, 2007) e no mar Adriático (AUBRY et alii, 2000). Essa espécie produz intensas florações na costa do Japão e foi a responsável pelos eventos de envenenamento diarréico nesse país (SUZUKI et alii, 1997). Hallegraeff (1987) também relata floração e toxicidade em moluscos atribuídos à *D. fortii* no sul da Austrália.

*D. tripos* somente esteve presente no final da primavera (40 células.l<sup>-1</sup> somente à 1 metro de profundidade, apenas no mês de novembro), durante o verão (40 células.l<sup>-1</sup> no estrato 0-4 metros de profundidade em dezembro e 20 células.l<sup>-1</sup> no estrato 0-4 metros de profundidade em fevereiro). Em agosto, porém foram encontradas 10 células.l<sup>-1</sup> à 1 metro de profundidade. Sua presença já havia sido relatada para a ilha Guaíba anteriormente por Ferreira (2004). Ainda no litoral brasileiro foi encontrada em São Paulo (VILLAC et alii, 2008). Moser et alii (2005) relatou a espécie em alta densidade na baía de Santos. Encontra-se presente em águas da Nova Zelândia (BURNS; MITCHELL, 1982). Também no mar

Mediterrâneo na costa da Croácia por Marasovic et alii (2007), porém sem nenhuma informação acerca de sua abundância ou de sua frequência.

*D. rotundata* só esteve ausente nos meses de agosto, outubro e novembro. Foi mais abundante durante o verão (média de 50 células.l<sup>-1</sup>, com máximo de 70 células.l<sup>-1</sup> em dezembro). No outono 33 células.l<sup>-1</sup>, no inverno 20 células.l<sup>-1</sup> e na primavera apenas 3 células.l<sup>-1</sup>. A espécie já foi relatada anteriormente para a baía de Sepetiba, apenas na ilha Guaíba, Rio de Janeiro (FERREIRA, 2004). Também já foi descrita para o litoral de São Paulo (VILLAC et alii, 2008). Klöpler et alii (2003) consideraram sua abundância muito baixa (< 160 células.l<sup>-1</sup>) e relatou sua ocorrência somente no verão, na costa da Alemanha. Os demais trabalhos consultados apenas relatam a presença da espécie na costa da Finlândia (SUIKKANEN et alii, 2007), Nova Zelândia (BURNS; MITCHELL, 1982), no mar Adriático (AUBRY et alii, 2000), na costa do Vietnã (NGUYEN et alii, 2006), na Croácia (MARASOVIC et alii, 2007), na Grécia (KOUKARAS; NOKOLAIDIS, 2004) e no mar Negro (VERSHININ et alii, 2007). O único relato encontrado para floração de *D. rotundata* ocorreu na costa leste do Canadá (CEMBELLA, 1989).



**Figura 27.** Somatório das densidades celulares de cada espécie de *Dinophysis* identificada para a ilha Guaíba, durante o período analisado (ao longo de uma coluna d'água de 8 metros de profundidade).

*D. caudata* foi encontrada, sempre em densidades celulares muito baixas, principalmente nos períodos mais quentes de primavera (20 células.l<sup>-1</sup> apenas em novembro, à 3 metros de profundidade) e verão (30 células.l<sup>-1</sup>, apenas em dezembro entre 5-6 metros de profundidade) na ilha Guaíba. Porém 20 células.l<sup>-1</sup> foram encontradas no mês de abril à 2 metros de profundidade. Sua presença na baía de Sepetiba já havia sido relatada por Vianna (2003) e também por Ferreira (2004) nas ilhas Guaíba e Madeira. Ainda na região sudeste do Brasil foi relatada apenas sua presença nos estados do Espírito Santo (BASTOS; GARCIA,

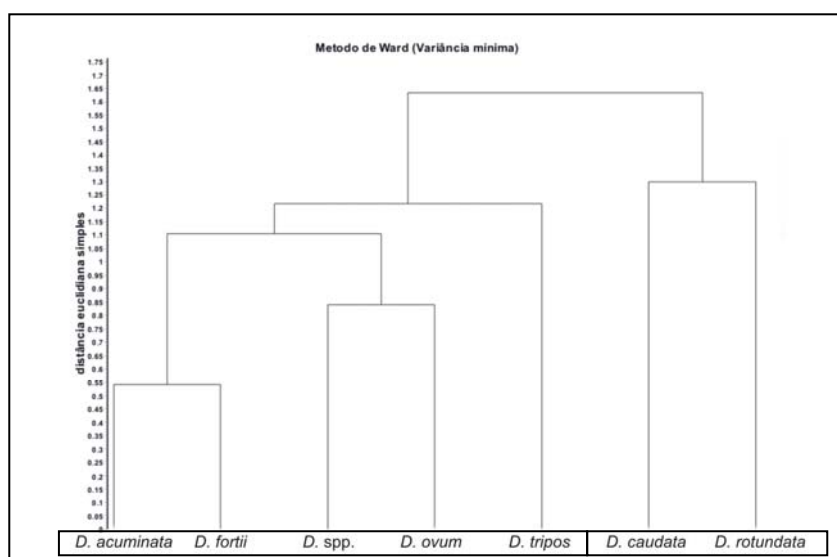
2005) e em São Paulo (VILLAC et alii, 2008). Na região sul, foi encontrada no Paraná (MACEDO, 2007), Santa Catarina (PROENÇA, 2004) e no Rio Grande do Sul (PERSICH; GARCIA, 2003; FUJITA; ODEBRECHT, 2007; BASTOS, 2009c). Também relatada para a região nordeste, no litoral de Pernambuco (ESKINASE-LEÇA et alii, 1972). A espécie tem sido relatada para mares tropicais como a costa do Vietnã, onde ocorreu durante todo o ano e atinge densidades celulares máximas de 3000 células.l<sup>-1</sup> durante o verão (NGUYEN et alii, 2006). Também na costa das Filipinas essa espécie foi a mais abundante, juntamente com *D. miles*, principalmente no início da primavera apresentando de 1000-1500 células.l<sup>-1</sup> e a densidade máxima de 2800 células.l<sup>-1</sup> durante o verão (MARASIGAN et alii, 2001). A espécie também produz florações na costa chinesa (LU; RODGKISS, 2004). Produz florações na costa da Índia (SANTHANAM; SRINIVASAP, 1996).

*D. ovum* ocorreu apenas no verão (em média 97 células.l<sup>-1</sup>) e exibiu a densidade celular máxima no mês de fevereiro com 220 células.l<sup>-1</sup>. Espécie típica de águas subtropicais quentes. Encontrada nos mares Mediterrâneo, Adriático e no oceano Atlântico (costa inglesa e espanhola), segundo Raho et alii (2008). E também para a Nova Zelândia (BURNS; MITCHELL, 1982).

#### 4.4 Dominância na Comunidade de *Dinophysis*

As associações existentes entre as espécies que compuseram a comunidade de *Dinophysis* na ilha Guaíba, durante o período estudado, foram verificadas mediante Análise de Classificação. Onde as análises no modo R foram obtidas agrupando amostragens em função das espécies ocorrentes e modo Q através do agrupamento de espécies em função do padrão de ocorrência nas amostragens – tempo e profundidade.

A análise no modo R mostrou 2 grandes grupos. No primeiro *D. acuminata* e *D. fortii* comportaram-se como espécies dominantes (apresentando alta abundância), tendo *Dinophysis* spp., *D. ovum*, *D. tripos* como espécies acessórias. No segundo grupo *D. acuminata* continuou dominando, porém apresentando abundância menor; *D. caudata* e *D. rotundata* ocorreram em abundâncias semelhantes à da espécie dominante, exercendo assim uma maior dominância relativa dentro do grupo 2 (Figura 28).



No Japão *D. acuminata* e *D. fortii* são relatadas por Nishitani et alii (2005) como espécies dominantes de uma comunidade onde também ocorrem *D. caudata*, *D. infundibula*, *D. mitra* e *D. rudgei*. Durante o final da primavera e início do verão *D. acuminata* domina a comunidade. Durante o verão sua densidade celular diminui enquanto *D. caudata* aumenta sensivelmente e *D. fortii* assume a dominância da comunidade durante o final do verão e outono. As demais espécies permanecem sempre como espécies acessórias. À partir do final do outono e durante todo o inverno as espécies de *Dinophysis* não foram detectadas.

Na análise de classificação no modo Q as espécies foram agrupadas sob a perspectiva das coletas (mês, profundidade), para a observação de padrões de amostragem com composições de espécies similares (Figura 29). Foram gerados cinco grupos de amostras a um nível de corte definido arbitrariamente em 2,5 e todos os grupos foram considerados altamente significativos ( $p < 0,001$ ). Analisando-se o padrão de ocorrências em cada grupo conforme visto na tabela 03.

**Tabela 03.** Grupos da análise no Modo Q. Teste de significância dos grupos executado pelo Modelo de permutações de Monte Carlo. Todos os grupos foram significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ).

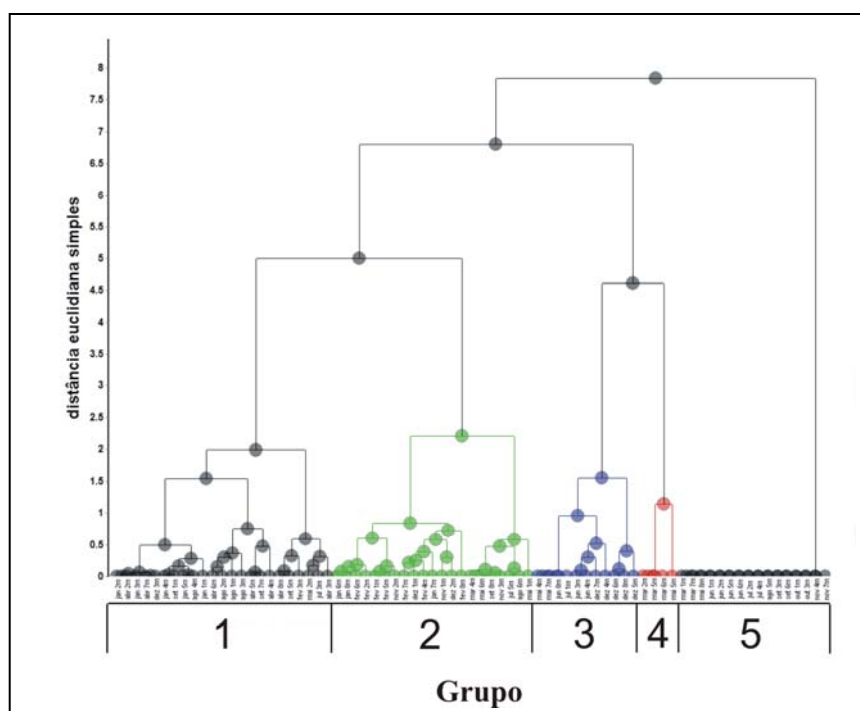
Grupo	Período	Espécie dominante	Abundância relativa	Espécies acessórias <sup>a</sup>
1	jan 1m, jan 2m, jan 3m, jan 4m, jan 5m, fev 3m, abr 2m, abr 3m, abr 4m, abr 5m, abr 6m, abr 7m, abr 8m, mai 2m, jul 3m, ago 1m, ago 2m, ago 3m, ago 4m, set 1m, set 5m, set 7m, dez 3m;	<i>D. acuminata</i> <i>D. fortii</i>	Alta	Todas as demais espécies presentes em pelo menos uma amostra
2	jan 6m, jan 7m, jan 8m, fev 1m, fev 2m, fev 4m, fev 5m, fev 6m, fev 7m, fev 8m, mar 4m, mai 1m, mai 6m, jul 5m, ago 6m, set 8m, nov 1m, nov 2m, nov 3m, dez 1m, dez 2m;	<i>D. acuminata</i> <i>Dinophysis</i> spp.	Alta	Todas exceto <i>D. caudata</i>
3	Mai 4m, mai 7m, jun 3m, jun 4m, jun 8m, jul 1m, dez 4m*, dez 5m, dez 6m, dez 7m, dez 8m,	<i>D. acuminata</i> <i>D. rotundata</i>	Baixa	Nenhuma
4	Mar 2m, mar 5m, mar 6m, mai 5m	<i>D. fortii</i> <i>D. rotundata</i>	Baixa	Nenhuma
5	Mar 1m, mar 7m, mai 8m, jun 1m, jun 5m, jun 6m, jul 2m, jul 4m, ago 5m, set 3m, set 6m, out 1m, out 3m, nov 4m, nov 7m;	<i>D. acuminata</i>	Baixa	Nenhuma

\* amostra com padrão de abundância diferente do observado no grupo; <sup>a</sup> Espécies que apresentaram menor abundância relativa dentro do grupo.

O padrão de agrupamento de amostragens refletiu o resultado encontrado para *Dinophysis acuminata*. Isso porque foi a espécie que apresentou maior relevância, em termos de abundância relativa e ocorrência, evidenciando as suas relações demonstradas na tabela 03. As coletas realizadas na estação onde *D. acuminata* apresentou suas maiores abundância (verão, principalmente no estrato 0-4 metros de profundidade) encontraram-se nos grupos 1 e 2, no modo Q de agrupamento. A exceção foi a coleta de dezembro na profundidade de 4 metros, que exibiu *D. acuminata* em baixa abundância relativa (50 células.l<sup>-1</sup>), por causa da presença das outras espécies, *D. tripos* e *D. rotundata*, com 10 células.l<sup>-1</sup> cada.

Os grupos 3, 4 e 5 apresentam em comum as menores abundâncias relativas de *D. acuminata* e a ausência de espécies acessórias. Nesses grupos encontram-se principalmente as coletas de outono, inverno e primavera. Salientando que na análise de variância não houve diferença significativa entre essas estações para a abundância e distribuição de *D. acuminata*.





O que diferiu um grupo do outro foi a ocorrência das espécies co-dominantes *D. fortii* e *D. rotundata*, isso porque *D. acuminata* exibiu baixa abundância relativa nessas amostras. Por exemplo, na coleta de Julho 1 à metro de profundidade *D. acuminata* e *D. rotundata* apresentaram abundância de 20 células.l<sup>-1</sup> cada; em maio à 4 metros de profundidade *D. acuminata* e *D. rotundata* apresentaram abundância de 10 células.l<sup>-1</sup> cada. As coletas referentes ao verão relatadas no grupo 3 foram pertinentes à presença de *D. rotundata* como espécie co-dominante no estrato inferior da coluna d'água em Dezembro (>4 metros), com por exemplo, *D. acuminata*, *D. fortii* e *D. rotundata* apresentando abundância de 60 células.l<sup>-1</sup>, 10 células.l<sup>-1</sup> e 10 células.l<sup>-1</sup>, respectivamente.

Na Alemanha, no verão de 2000, *D. acuminata* também ocorreu como espécie dominante (4260 células.l<sup>-1</sup>) sendo acompanhada por *D. norvegica* (<400 células.l<sup>-1</sup>) e *D. rotundata* e *D. acuta* ambas com densidades celulares na ordem de 100 células.l<sup>-1</sup>. Durante o período em que o trabalho foi realizado houve produção de toxinas diarréicas, porém sem que se pudesse estabelecer alguma relação direta entre a densidade celular e a concentração de toxinas: ora a densidade de *Dinophysis* era alta e a concentração de toxinas era baixa, ora acontecia o inverso ou ambas elevam-se juntas. Em relação às variáveis oceanográficas o período de maiores densidades de *Dinophysis* em águas germânicas coincidiu com as menores salinidades (abaixo de 32) e maiores temperaturas (17,8°C) segundo Klöpper et alii (2003).

*D. acuminata* dominou durante todo o ano na ilha Guaíba, apenas variando em abundância, alta principalmente no verão e baixa no outono/inverno (conforme visto na Tabela 01). No outono/inverno e também no início do verão ela divide a dominância com *D. rotundata*. À medida em que o verão se desenvolveu *D. rotundata* cedeu o lugar de co-dominante à *D. fortii*.

Para a costa Francesa Delmas et alii (1993) relatam como espécie mais frequente e dominante *D. acuminata* e *D. sacculus*; como espécie acompanhante *D. rotundata*, mas sempre em baixas abundâncias. *D. acuta*, *D. tripos* e *D. caudata* foram relatadas como episódicas. *D. acuminata* e *D. acuta* são apontadas como as espécies dominantes da

comunidade de *Dinophysis* nas Rias Baixas da Galícia (NE da Espanha). Durante a primavera/verão a comunidade é dominada por *D. acuminata* e durante o outono por *D. acuta*. Nessa comunidade também ocorrem, sempre em baixas densidades celulares ( $< 20$  células.l<sup>-1</sup>) *D. sacculus*, *D. rotundata*, *D. tripos*, *D. caudata*, *D. hastata* e *D. fortii* (REGUERA et alii, 1995).

*D. caudata* foi relatada para um levantamento da comunidade de dinoflagelados da Plataforma levantina (na costa da Turquia, mar Mediterrâneo) como uma espécie frequente, também tendo sido identificadas *D. tripos* e *D. rotundata* classificadas como ocasionais ou raras. Outras espécies deste gênero ainda não relatadas como tóxicas também foram identificadas: *D. amandula*, *D. argus*, *D. diegensis*, *D. doryphorum*, *D. elongata*, *D. favus*, *D. hastata*, *D. mitra*, *D. schuettii*, *D. sphaerica* (POLAT; KORAI, 2007).

Ainda para águas japonesas na baía de Matsuru *D. acuminata* e *D. fortii* dominam durante a primavera/verão. Mais especificamente *D. acuminata* domina durante o final da primavera e início do verão e no final do outono. Outras espécies do gênero ocorrem como acessórias: *D. rudgei*, *D. infundibula*, *D. caudata*, *D. rotundata* e *D. mitra* (NISHITANI et alii 2002).

Em ambientes tropicais na costa das Filipinas, caracterizados por águas mais quentes e menos salinas as espécies dominantes são *D. caudata* e *D. miles*, ocorrendo como acessórias *D. doryphorum*, *D. rapa*, *D. pulchela*, *D. mitra* e *D. rudgei* (MARASIGAN et alii, 2001). Da mesma forma no Vietnã *D. caudata* domina e relatou-se como espécies acessórias *D. fortii*, *D. miles*, *D. rotundata*, *D. mitra* e *D. hastata* (NGUYEN et alii, 2006).

Na costa da Alemanha *D. acuminata* é a espécie dominante, exibindo alta densidade no verão (cerca de 4000 células). No outono *D. norvegica* também domina, porém com abundâncias de 1/10 daquelas apresentadas por *D. acuminata*. *D. rotundata* e *D. acuta* também foram encontradas, mas com abundâncias inferiores à 160 células.l<sup>-1</sup> (KLÖPER et alii, 2003). Para a Grécia a comunidade de *Dinophysis* apresentou-se dominada por *D. acuminata*, havendo ocorrência de *D. sacculus*, *D. rotundata*, *D. fortii*, *D. odiosa* e *D. caudata* em abundâncias baixas como espécies acessórias (KOUKARAS; NIKOLAIDIS, 2004).

#### **4.5 Influência dos Fatores Abióticos na Distribuição de *Dinophysis* spp.**

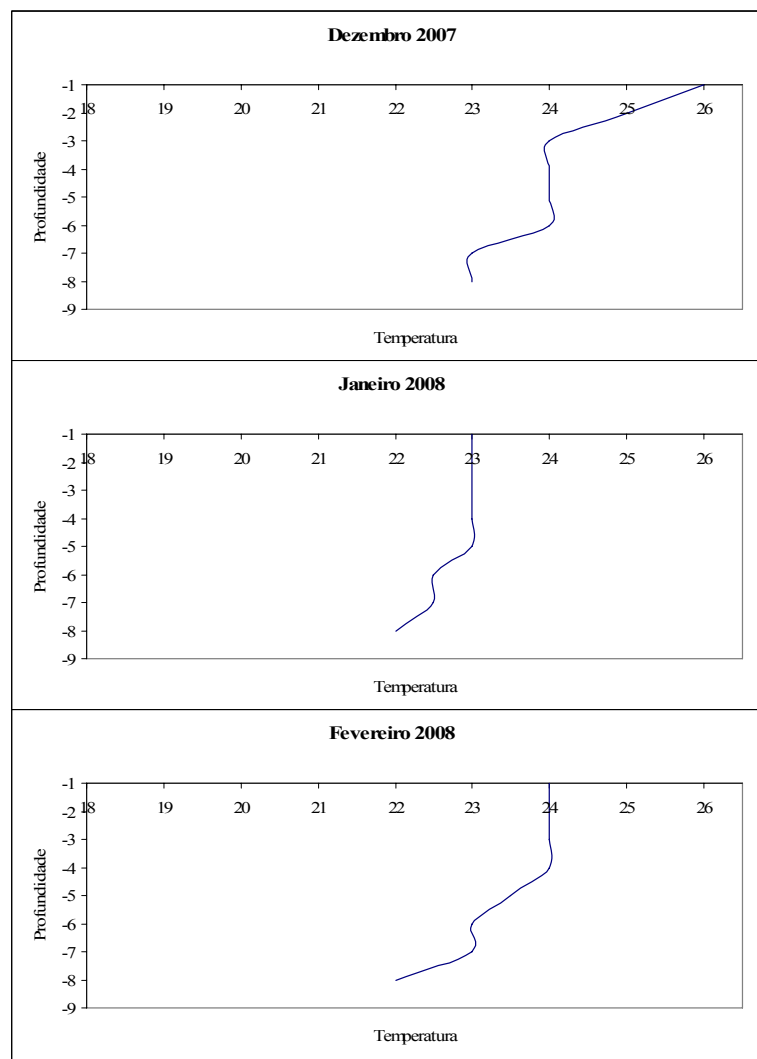
Buscou-se ordenar as espécies identificadas, suas abundâncias, as variáveis hidrográficas e parâmetros climatológicos, bem como a variação com a profundidade e o tempo, perfazendo assim uma matriz que possibilitou a projeção das amostras em um plano (formado por dois eixos principais), gerando assim uma imagem simplificada dessa estrutura multidimensional. Para isso utilizou-se a Análise de Redundância Canônica (como método de ordenação condicionada) 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).

Essa ferramenta estatística tem sido amplamente utilizada para avaliar as relações existentes entre variáveis ambientais e parâmetros biológicos associados à comunidade planctônica. Em um lago hipertrófico localizado em Valência (Espanha) a análise de redundância (RDA) foi considerada um método eficiente para avaliar as interações entre o fitoplâncton e as variáveis ambientais e, também para revelar a tendência na sucessão das espécies de cianofíceas ao longo do tempo (ROMO; TONGEREN, 1995). Skaloud et alii (2006) encontraram a distância da costa como a variável mais significativa (35% da variabilidade total dos dados) para a variação na composição da comunidade planctônica ao longo de um transecto de 250 km na costa da Dinamarca. Nos trabalhos supracitados as variáveis significativas foram selecionadas através do teste de permutações de Monte Carlo.

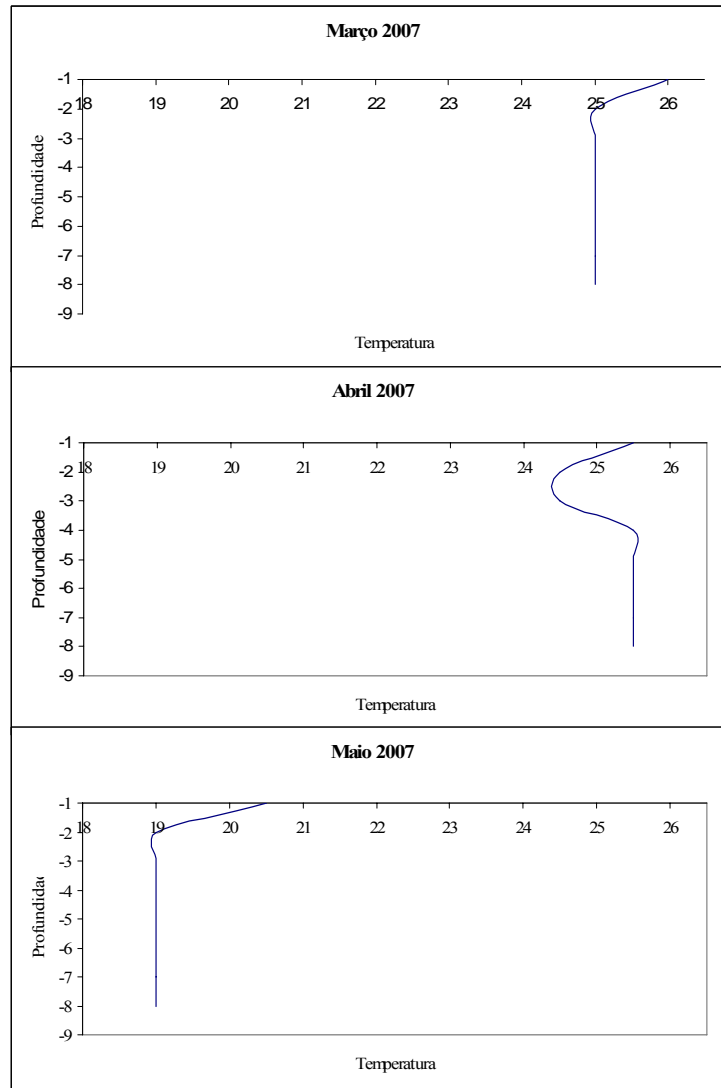
A distribuição de dinocistos, na costa oeste do Canadá, foi estudada com vistas à reconstrução das condições paleoceanográficas. Dois grupos de dados foram definidos pela análise multivariada. No primeiro grupo, das vinte e uma variáveis ambientais avaliadas a análise de redundância revelou apenas 8 como significativas (37,6% da variância total dos dados), entre elas a temperatura no inverno e a salinidade no outono. No segundo grupo, das trinta e quatro variáveis avaliadas apenas 7 foram significativas (39,2% da variância total dos dados), entre elas a distância da praia e do porto de Vancouver (RADI et alii, 2007).

O programa de monitoramento executado na costa da Escócia forneceu dados para o estudo da diversidade e da variação sazonal de *Pseudo-nitzschia* spp., diatomáceas produtoras de ácido domóico. A análise de redundância revelou como significativas 7 variáveis (concentrações de silicato, fosfato e nitrato, amônia, temperatura salinidade e principalmente fotoperíodo) que explicaram 31% da variação dos dados destas espécies de microalgas que são fotoautotróficas (FEHLING et alii, 2006).

Foram mensurados para o presente trabalho variáveis hidrológicas: temperatura (Figuras 30, 31, 32 e 33), salinidade (Figura 34, 35, 36, 37), profundidade Secchi (Figura 38) e parâmetros climatológicos: pluviosidade, velocidade de vento e direção do vento (Tabela 04). Dos quais apenas salinidade e intensidade de vento foram considerados significativos pelo Teste de Permutações de Monte Carlo.

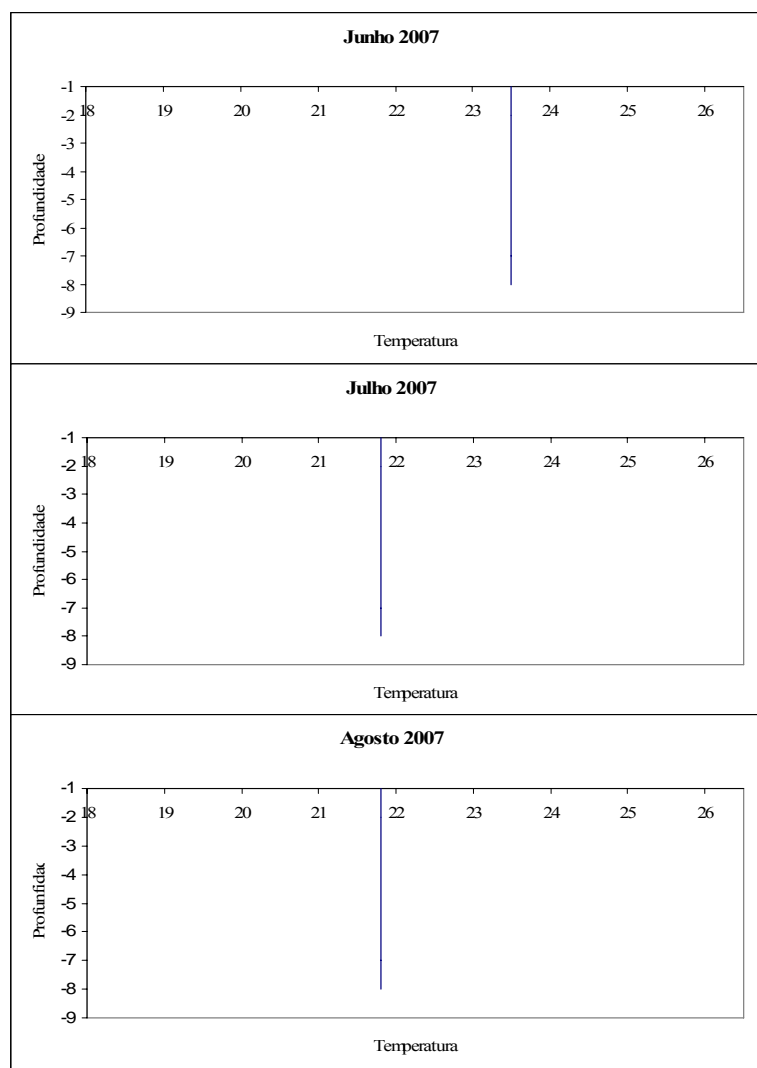


**Figura 30.** Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de verão, na ilha Guaíba.



A temperatura apresentou amplitude de variação de 18°C (inverno) à 26°C (verão). Durante o verão as maiores temperaturas foram encontradas, no estrato superior da coluna d'água com médias de 24,75°C ( $\pm 0,96^\circ\text{C}$ ) para dezembro, 23°C ( $\pm 0^\circ\text{C}$ ) para janeiro e 24°C ( $\pm 0^\circ\text{C}$ ) para fevereiro. As temperaturas máximas encontradas ocorreram no primeiro metro de profundidade 26°C, 23°C e 24°C em dezembro, janeiro e fevereiro, respectivamente. No estrato inferior as temperaturas apresentaram a tendência natural de diminuição com o aumento da profundidade: médias de 23,5°C ( $\pm 0,58^\circ\text{C}$ ) para dezembro, 22,5°C ( $\pm 0,41^\circ\text{C}$ ) para janeiro e 22,88°C ( $\pm 0,63^\circ\text{C}$ ) para fevereiro.

Os meses de início do outono apresentaram as maiores temperaturas ao longo de toda a coluna d'água. Apenas em maio houve redução na temperatura. Março apresentou a coluna d'água praticamente isotérmica à 25°C, exceto a temperatura máxima de 26°C encontrada à 1 metro de profundidade. O mês de março também é relatado como o mais quente do ano para a baía de Ilha Grande por Ferreira (1999). Em abril a coluna d'água apresentou temperatura média de 25°C ( $\pm 0,58^\circ$ ) no estrato de 0-4 metros devido às temperaturas mínimas encontradas à 2 e 3 metros (24,5°C); no restante da coluna d'água a temperatura foi de 25,5°C ( $\pm 0^\circ\text{C}$ ). Em maio houve redução na temperatura e a coluna d'água apresentou-se isotérmica à 19°C exceto à 1 metro de profundidade (20,5°C).



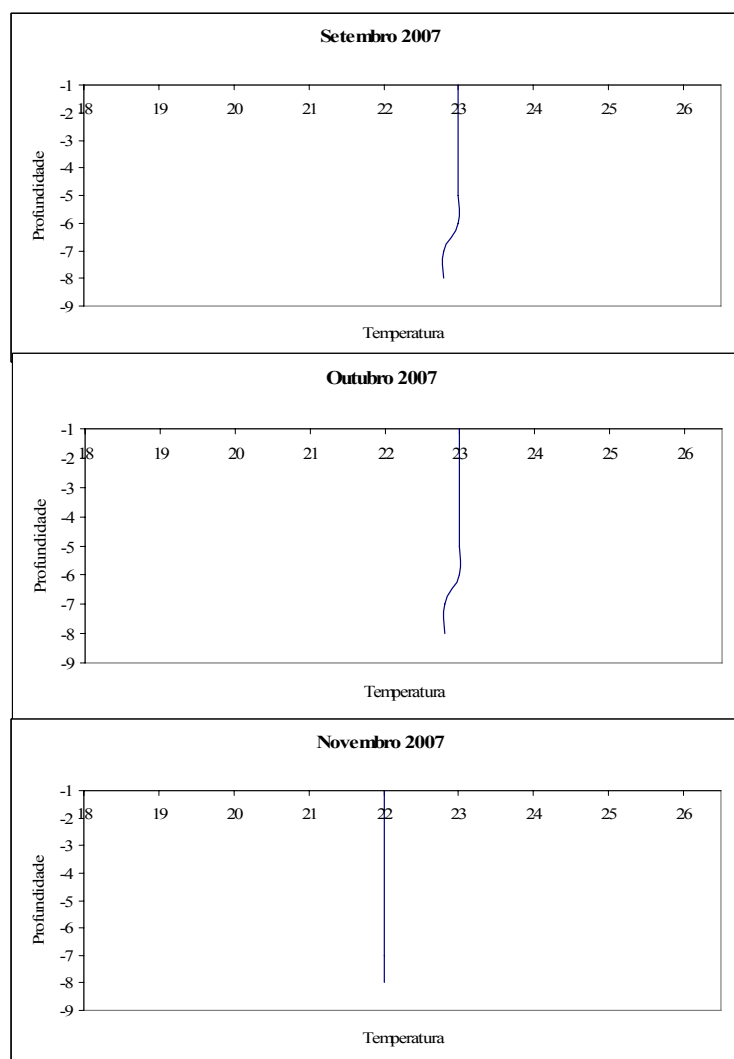
**Figura 32.** Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de inverno, na ilha Guaíba.

Os meses de inverno apresentaram a coluna d'água isotérmica à 23,5°C em junho, 21,8°C em julho e 21,8°C em agosto. Os meses de julho a novembro apresentaram as maiores intensidades de vento, que possivelmente modularam a homogeneidade da temperatura ao longo da coluna d'água (Tabela 04).

**Tabela 04.** Parâmetros climatológicos (valores médios mensais) da estação meteorológica localizada na ilha Guaíba. Fornecidos gentilmente pela Cia. Vale.

	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev
Pluviosidade (mm)	8,55	6,34	1,714	PP	0,90	0,18	0	8,34	8,51	6,35	7,47	5,98
Intensidade de vento (m.s <sup>-1</sup> )	2,92	2,8	2,99	PP	3,55	3,44	3,83	3,35	3,52	3,06	3,13	2,96
Direção vento (em graus)	184,41	176,72	185,7	PP	179,77	171,33	158,83	168,16	174,14	184,61	184,33	184,77

PP – parcela perdida

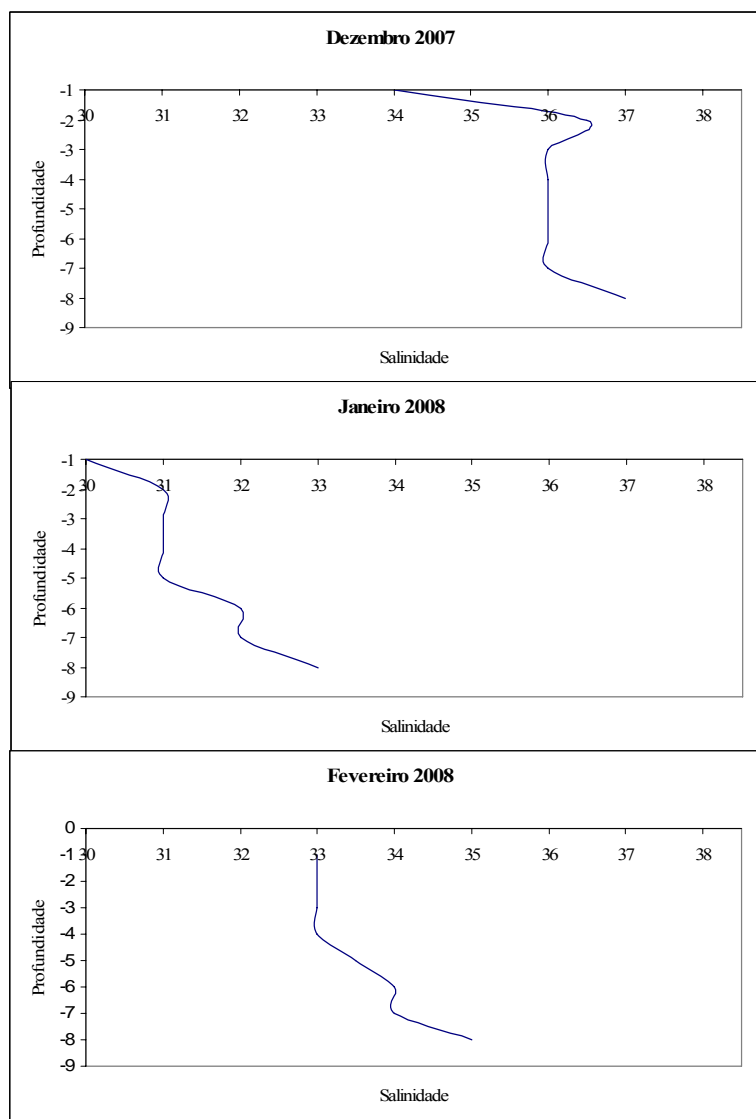
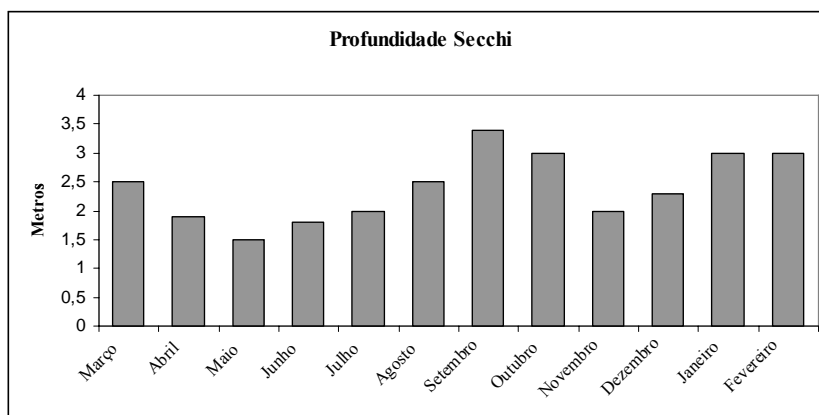


**Figura 33.** Variação da temperatura ao longo da coluna d'água durante os meses de primavera, na ilha Guaíba.

A primavera apresentou temperaturas semelhantes às encontradas no inverno. Durante os meses de setembro e outubro a coluna d'água também manteve-se praticamente isotérmica à 23°C (com temperaturas ligeiramente mais baixas junto ao fundo). Em novembro a coluna d'água esteve completamente isotérmica à 22°C. Inverno e primavera encontram-se sujeitos à ação das maiores intensidades de vento relatados para a ilha Guaíba durante todo o período analisado.

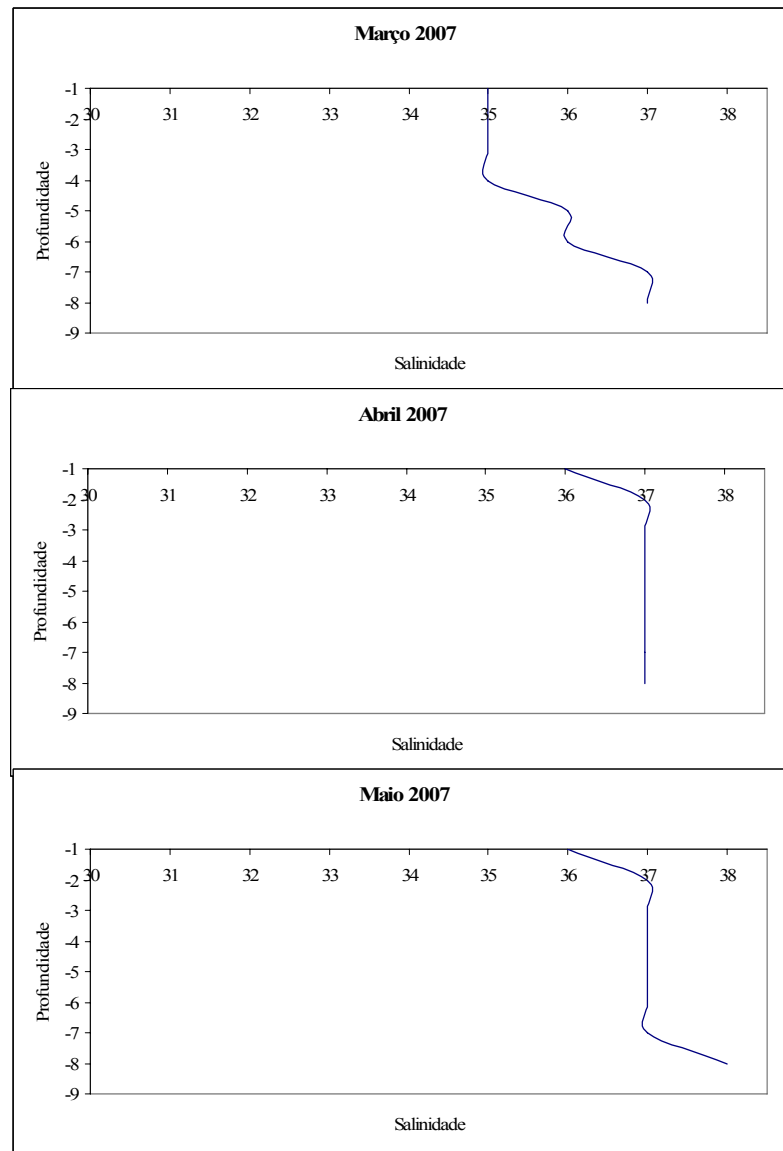
Em relação à salinidade todos os meses analisados apresentaram aumento dessa variável em direção ao fundo e as menores salinidades próximo à superfície; caracterizando assim a entrada de águas tipicamente oceânicas (mais salinas) junto ao fundo. Excetuando-se o mês de janeiro o estrato inferior da coluna d'água (> 4 metros) na ilha Guaíba não apresentou salinidades inferiores à 35.

Os meses de verão (exceto dezembro) apresentaram as menores salinidades nos dois estratos. Janeiro foi o mês onde ocorreram as menores salinidades registradas: média de 30,75 ( $\pm 0,5$ ) no estrato superior e de 32 ( $\pm 0,82$ ) para > 4 metros (Figura 34). Dentre os meses de verão, janeiro apresentou maior média de pluviosidade (Tabela 04), devido a chegada de sucessivos sistemas frontais.



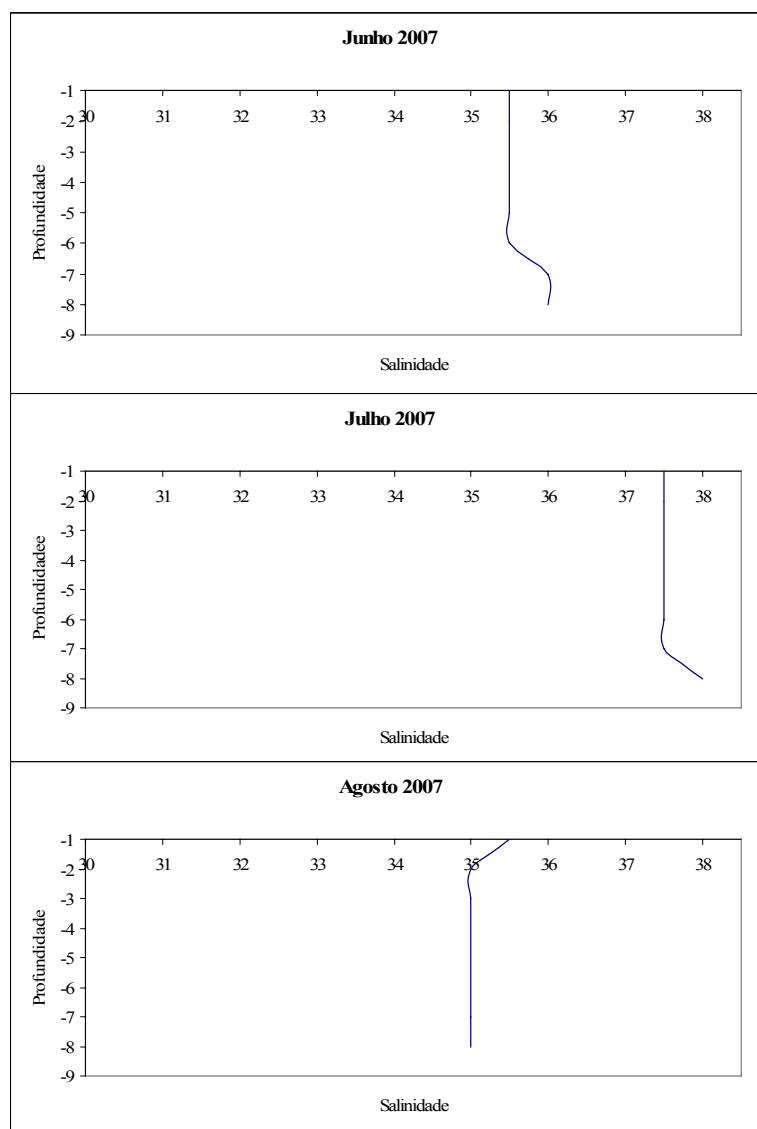
**Figura 35.** Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de verão, na ilha Guaíba.

A profundidade Secchi foi utilizada para estimar a penetração de luz na coluna d'água (Figura 34). As águas que circundam ilha Guaíba são turvas, tanto pela presença de microalgas (ambiente mesotrófico) quanto pela presença de sedimentos e material orgânico particulado trazido pelo aporte de rios existentes na região (e que drenam áreas vegetadas por manguezais). O valor máximo encontrado (3,4 metros) ocorreu em Setembro, mês onde a precipitação média foi de 0mm (Tabela 04), o que reduz o caudal dos rios e indica ausência de nebulosidade. Os meses de outono e inverno apresentaram os menores valores médios para esse parâmetro: 2,0 metros ( $\pm 0,5$ ) e 2,1 metros ( $\pm 0,4$ ). Os meses de primavera e verão apresentaram o mesmo valor médio para esse parâmetro 2,8 metros (com desvio padrão de 0,7m na primavera e 0,4m no verão).



**Figura 36.** Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de outono, na ilha Guaíba.



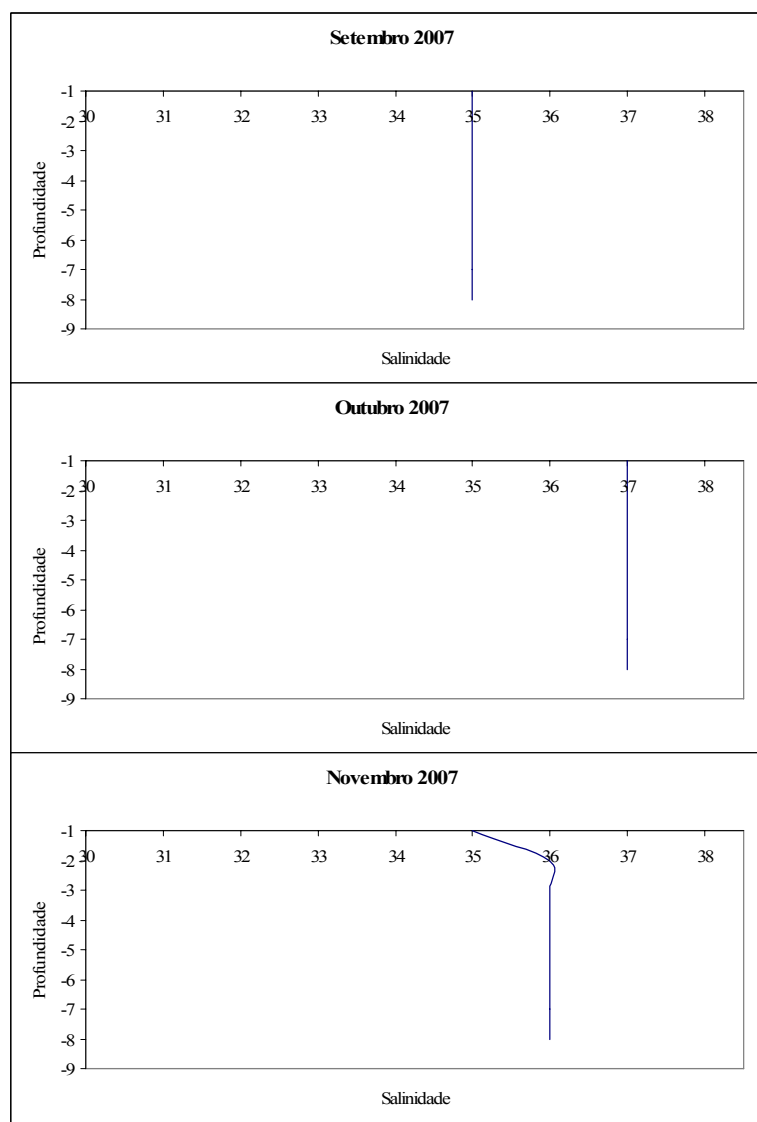


**Figura 37.** Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de inverno, na ilha Guaíba.

Assim como ocorreu com a variável temperatura, a salinidade também apresentou comportamento semelhante no inverno e na primavera. As duas variáveis distribuíram-se homogeneamente ao longo da coluna d'água, configurando uma situação de mistura turbulenta alta, durante as estações sujeitas à maiores intensidades de vento (Tabela 04).

No inverno a coluna d'água mostrou-se praticamente isohalina, exceto pequeno incremento junto o fundo (em junho e julho) e próximo à superfície em agosto. As maiores salinidades encontradas durante o período analisado ocorreu no inverno (35,5 para junho, 37,5 para julho e 35 em agosto) estão de acordo com os menores índices de pluviosidade (Tabela 04).

Durante os meses de setembro e outubro a coluna d'água esteve isohalina, 35 e 37 de salinidade, respectivamente. Em novembro houve redução na salinidade nos 2 primeiros metros de profundidade (devido à precipitação) e o restante da coluna d'água manteve-se à 36 de salinidade.



**Figura 38.** Variação da salinidade ao longo da coluna d'água durante os meses de primavera, na ilha Guaíba.

No presente trabalho o plano canônico resultante da Análise de Redundância Canônica explicou apenas 11% da variância (inércia) total dos dados, ou da distribuição do gênero *Dinophysis* no tempo e profundidade, sendo 10,6% no primeiro modo de variação (Eixo 1), e 0,4% no segundo modo (Eixo 2). Apenas dois eixos devem ser considerados aqui, pois apenas duas variáveis apresentaram relação significativa com a distribuição das espécies estudadas (Tabela 05).

**Tabela 05.** Autovalores e inércia total obtidos através da análise de redundância à partir dos parâmetros e variáveis abióticas 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 *Dinophysis* spp. selecionadas pelo Teste de Monte Carlo.

Eixo	Autovalores				Variância total
	1	2	3	4	
Modelo original	0.139	0.029	0.023	0.007	0.202
Modelo final	0.106	0.004	-	-	0.110

A variável abiótica salinidade e o parâmetro abiótico intensidade de vento significativos foram selecionados através do modelo de permutação de Monte Carlo (rotina do CANOCO), cujos resultados são apresentados na tabela 4.

Em relação à temperatura e salinidade *D. acuminata*, a espécie mais representativa do gênero no presente estudo, apresenta grande plasticidade ambiental. Porém tais fatores abióticos também possuem importância sob a perspectiva de sua capacidade de promover estabilidade em uma coluna d'água. No presente trabalho a temperatura não apresentou relevante variação à ponto de formar uma situação de estabilidade da coluna d'água. Já a salinidade apresentou um decréscimo durante o verão (para o estrato de 0-4 metros) devido à intensa precipitação gerada pela passagem de sucessivos sistemas frontais entre janeiro e fevereiro de 2008.

Para microalgas autotróficas como diatomáceas a disponibilidade de luz (estimada aqui indiretamente pela profundidade Secchi) tem sido apontada como variável ambiental mais significativa pela RDA, além também da disponibilidade de nutrientes inorgânicos (WULLF et alii, 2005; FEHLING et alii, 2006). Porém conforme já descrito na revisão de literatura *Dinophysis* spp. são consideradas mixotróficas em sua maioria, podendo ser abundantes em ambientes com restrita disponibilidade de luz (SETÄLÄ et alii, 2005).

Para o dinoflagelado heterotrófico *Noctiluca scintilans* todas as variáveis ambientais mensuradas por Dela-Cruz et alii (2007) – tanto físicas (temperatura, salinidade), químicas (nutrientes inorgânicos) e biológica (clorofila *a*) – foram significativas, para a confirmar a hipótese de que a eutrofização cultural atuou como determinante no padrão de abundância espacial do dinoflagelado. Especialmente a variável clorofila *a* explicou 54,1% e 55% do total da variância dos dados para o mês de novembro e fevereiro, respectivamente, em águas australianas.

Dados gerados por programas de monitoramento oferecem como vantagem uma longa série de dados. Dessa forma trabalho realizado no mar Báltico para avaliar a influência de fatores abióticos na sucessão de grupos fitoplanctônicos revelou com a análise de redundância grande variabilidade no percentual de explicação das variáveis abióticas: 42% para o grupo das diatomáceas e também das cianofíceas, 30% para os dinoflagelados, 58% para as criptofíceas. Para as diatomáceas e os dinoflagelados a salinidade foi a variável abiótica mais significativa na variância total dos dados abióticos apontados no estudo (GASIÛNAITE et alii, 2005).

**Tabela 06.** Resultado do teste de Monte Carlo para significância das relações entre parâmetros e variáveis ambientais e distribuição de dinoflagelados *Dinophysis* spp. ( $p \leq 0,05$ ).

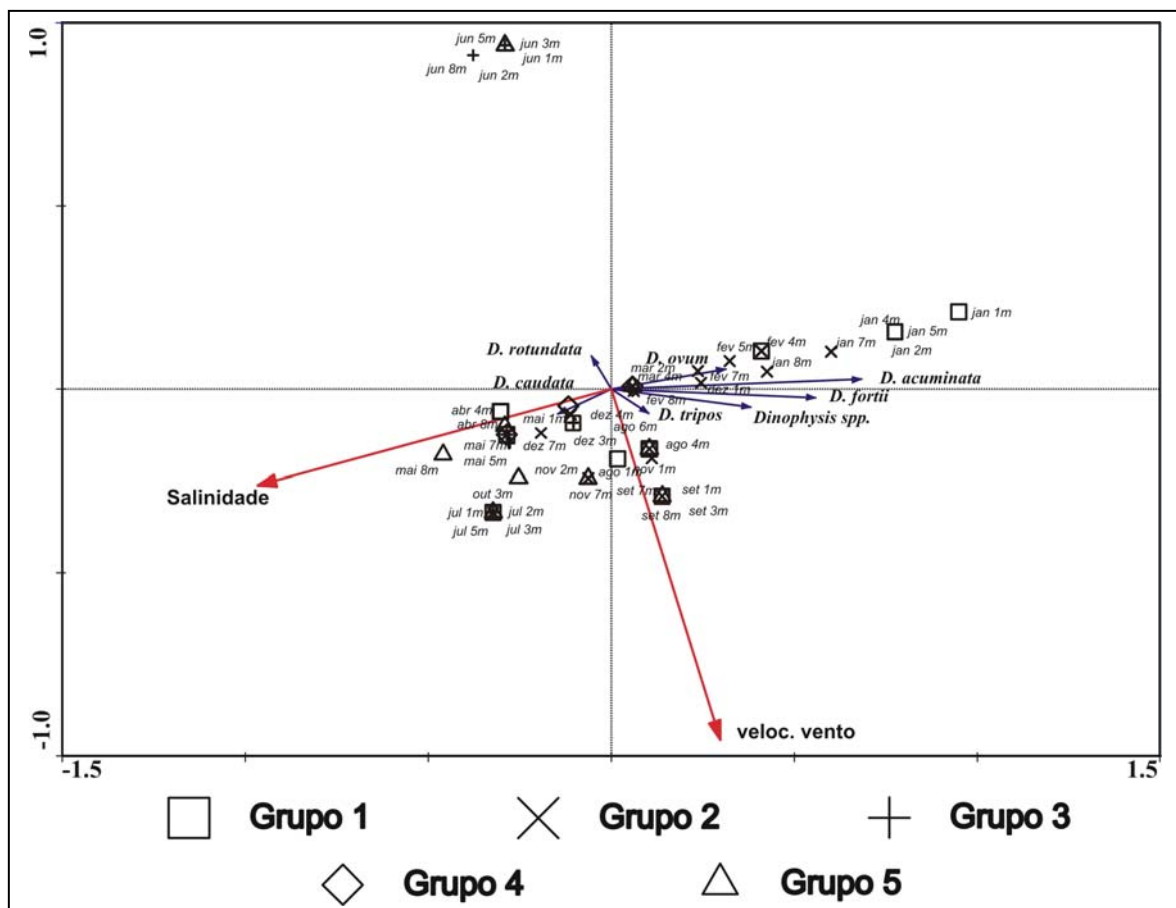
Variável	Efeitos condicionais		
	Lambda A	<i>p</i>	F
Precipitação média	0.01	0.530	0.80
Temperatura	0.02	0.163	1.56
Profundidade Secchi	0.02	0.128	1.75
Direção do vento	0.02	0.091	1.97
Velocidade do vento	0.03	0.032	2.52
Salinidade	0.10	0.000	8.04

O primeiro eixo canônico representou o gradiente principal dos dados, associado ao parâmetro salinidade, sendo gerado por um processo de regressão múltipla da matriz de *Dinophysis* pela matriz de variáveis ambientais. Este gradiente explicou grande parte (10,6%) da variância total (11%) dos dados. O segundo maior gradiente (Eixo 2) relacionou-se a velocidade do vento, que explicou uma pequena fração (0,4%) da variância dos dados. A

despeito disso, ambos os eixos foram significativos (Teste de Monte Carlo para significância do traço canônico, com 9999 permutações;  $p < 0,001$ ).

No primeiro eixo, as espécies do lado positivo (escores ou projeções positivos no primeiro eixo) ocorreram em valores menores de salinidade, e vice-versa. Da mesma forma, as amostras com valor positivo (projeção nesse eixo, ou escore) apresentaram valores de salinidade menores, e maior presença de espécies ocorrentes em baixas salinidades, como por exemplo, *D. acuminata* no verão.

O padrão mais acentuado no gráfico de RDA (Figura 39) foi pertinente à *D. acuminata* (e espécies co-dominantes no período, grupos 1 e 2 apresentados na tabela 03) encontrou-se relacionado às menores salinidades relatadas para a região no estrato superior da coluna d'água durante o verão, principalmente nos meses de janeiro (salinidade 30-31 no estrato 0-4 metros de profundidade) e fevereiro (33 no estrato 0-4 metros de profundidade). Para esse conjunto de dados, o parâmetro vento apresentou uma influência franca, ou seja, apresentou pouca relação com o gradiente definido pelo primeiro eixo (salinidade). À medida em que a salinidade aumentou, principalmente para as coletas de outono ( $36,5 \pm 0,8$ ) e inverno ( $35,5 \pm 1$ ) foram encontrados preferencialmente os grupos 1 e 5, e em poucas amostragens o grupo 2. O vento também exerceu pouca influência sobre esse padrão de distribuição.



**Figura 29.** Plano canônico da Análise de Redundância (RDA) utilizando a matriz de abundâncias de dinoflagelados (espécies de *Dinophysis*) e a matriz de variáveis ambientais significativas salinidade (modo principal de variação, eixo I) e velocidade do vento (modo secundário de variação, eixo II). Grupo 1 – Dominância de *D. acuminata* e *D. fortii*, em abundâncias relativas maiores, com presença de todas as espécies de *Dinophysis* em pelo menos uma amostra. Grupo 2 - Presença de todas as espécies, exceto *D. caudata*. Dominância de *D. acuminata* e *Dinophysis spp.*; Grupo 3 - Dominância de *D. acuminata* e *D. rotundata*, com baixas abundâncias relativas; Grupo 4 – Dominância de *D. fortii* e *D. rotundata* em baixas abundâncias relativas; Grupo 5 - Amostras onde ocorreu apenas *D. acuminata*.

*Dinophysis acuminata* tem sido relatada como amplamente distribuída em mares de todo o mundo por apresentar grande plasticidade ambiental, principalmente em relação à salinidade e temperatura. Na baía de Hiroshima *D. acuminata* apresentou maiores densidades celulares sob as condições de temperaturas amenas (16-19,5°C) e salinidade (19,1-28,6) (NISHITANI et alii 2005). No entanto para a baía de Matsuru 10-29,4°C (superfície) e 12,7-27,2°C (3 metros) e salinidade de 22,7-34 (NISHITANI et alii, 2002). Hoshiai et alii (2003) relataram as maiores densidades celulares de *D. acuminata* em salinidades de 32,7±0,85 também para o Japão. Já *D. fortii* foi associada à águas oceânicas, da corrente de Tushima (Japão), com salinidades de 33,59±0,24. *D. caudata* foi encontrada em temperaturas entre 15-34,3°C e salinidades de 8-34, mas sua densidade celular somente foi expressiva acima de 20°C e em salinidade de 8,2 no litoral do Vietnã (NGUYEN et alii, 2006).

No segundo eixo, as amostras de junho apresentaram os maiores valores de *D. rotundata* e menores valores de velocidade do vento, muito embora esse padrão tenha sido bastante tênue (0,4% da variância total). A maioria das amostras do mês de junho apresentou comportamento singular. Esse conjunto de dados concentrou-se principalmente em função do parâmetro vento, bem separadas do padrão de distribuição principal observado. Nesse conjunto foram encontrados os grupos 3 e 5, com dominância de *D. acuminata* e *D. rotundata* em baixas abundâncias relativas.

Os grupos anteriormente definidos na Tabela 03 apresentaram comportamento diferenciado no gráfico RDA (Figura 40): Grupo 1 – amostragens com maior diversidade e abundância; tendeu a se agrupar mais na porção positiva do eixo 1 (salinidade menor). Não apresentou tendência relacionada ao segundo eixo (velocidade do vento); Grupo 2 – distribuição sem tendências aparentes relacionadas aos dois eixos canônicos; Grupo 3 – totalmente concentradas nas porções negativas dos eixos I e II. Relacionadas as maiores abundâncias relativas de *D. caudata* e *D. rotundata*. Tendência de ocorrência em salinidades maiores; Grupo 4 – Tendência a se aglomerar na porção negativa do primeiro eixo, provavelmente devido a presença de *D. rotundata*; Grupo 5 – Apareceu preferencialmente na porção negativa do primeiro eixo e totalmente na porção negativa do segundo eixo com presença isolada de *D. acuminata* tendendo para amostras com velocidade do vento maior. Deve-se lembrar que o eixo dois quase não contribuiu para o modelo.

## 5. CONCLUSÕES

5.1 Foram identificadas seis espécies do gênero *Dinophysis*, na ilha Guaíba, durante o período analisado: *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. ovum*, *D. tripos* e *D. rotundata*. Sendo que ainda não havia relato de *D. ovum* em águas brasileiras. Todas são consideradas potencialmente nocivas por serem relatadas como produtoras de toxinas envolvidas na síndrome Envenenamento Diarréico por Moluscos.

5.2 *D. acuminata* foi a espécie mais frequente e com maior abundância relativa dentre as espécies identificadas, ao longo de todo o ano, na ilha Guaíba. A espécie dominou a comunidade de *Dinophysis* ao longo de todo o ano. No verão houve co-dominância com *D. fortii* e no outono e inverno com *D. rotundata*.

5.3 *D. acuminata* foi capaz de apresentar distribuição diferenciada em relação à profundidade apenas durante o verão, para a ilha Guaíba, sendo mais abundante no estrato superior da coluna d'água. Nas demais estações do ano essa diferença na abundância não foi significativa, nem entre as demais estações e nem em relação à distribuição em função da profundidade.

5.4 O verão foi a estação do ano que apresentou a maior ocorrência de espécies de *Dinophysis*, todas as identificadas, em maiores abundâncias relativas. *D. ovum* apenas ocorreu nessa estação.

5.5 Mesmos as maiores abundâncias relativas encontradas pelo presente trabalho durante o verão são consideradas baixas se comparadas às citadas na literatura consultada. Não foi observada nenhuma evidência de floração durante o período analisado.

5.6 Dentre as variáveis hidrológicas e climatológicas avaliadas para modular a distribuição de *Dinophysis* apenas a salinidade e a intensidade do vento foram significativas. As maiores abundâncias relativas de *D. acuminata* foram associadas à salinidade mais baixas e fraca intensidade de ventos durante o verão.

5.7 Mesmo em baixa abundância relativa durante o verão (poucas centenas de células) *Dinophysis* spp. **poderiam** oferecer perigo de contaminação para os moluscos **se, e somente se**, as toxinas estivessem sendo produzidas. Portanto, mesmo ocorrendo em baixas densidades celulares *D. acuminata* oferece há perigo à ocorrência de EDM em humanos consumidores de moluscos na região.

## 6. RECOMENDAÇÕES

6.1 Ampliar a escala de trabalho espacial para mesoescala: incluir pontos de coleta na parte interna baía de Sepetiba; delinear uma malha amostral que inclua a baía de Ilha Grande, além de pontos amostrais sobre a plataforma continental externa ao largo das supracitadas baías. Continuar a investigação da distribuição destas microalgas em função da profundidade.

6.2 Ampliar a escala temporal de trabalho, para observar se há ocorrência de variações interanuais na distribuição de *Dinophysis* spp. ao longo de toda a malha de amostragem. Trabalhar com periodicidade amostral quinzenal durante o verão e mensal no restante do ano.

6.3 Avaliar a influência de processos oceanográficos na distribuição de *Dinophysis*: transporte por correntes de maré e geradas por ventos.

6.4 Estudar a autoecologia de *D. acuminata* na região: aspectos ligados ao seu desenvolvimento, suas relações ecológicas com predadores, presas e competidores e sua relação com variáveis ambientais.

6.5 Avaliar o perfil toxígeno de *Dinophysis* spp. e sua relação com os moluscos: aspectos ligados à sanidade dos animais e à segurança alimentar.

6.6 A FAO aponta como entrave ao desenvolvimento da malacocultura a falta de um programa de monitoramento e da elaboração de legislação adequada que estabeleça limites seguros ao consumo de bivalvos. A imediata implementação do Programa de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalvos previstos pelo MAPA e SEAP é fundamental para garantir tanto a sanidade dos moluscos, quanto a segurança alimentar. Bem como possibilitar a expansão do mercado maricultor, até mesmo para exportação.

6.7 É condição *sine qua non* a necessidade da integração entre universidades, órgãos governamentais e maricultores. De forma que a pesquisa científica gere conhecimento, as políticas públicas garantam sua aplicabilidade e o setor produtivo possa convertê-lo em produtividade, gerando finalmente o desenvolvimento social, econômico e ambiental que a malacocultura almeja.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

- ADACHI, M.; OKAMOTO, N.; MATSUBARA, M.; NISHIJIMA, T.; SUZUKI, T. Occurrence of toxic *Dinophysis acuminata* (Dinophyceae) in Uranouchi Inlet, Japan. **Fisheries Science**, V. 74, N° 6, p. 1315-1321, 2008.
- ALBUQUERQUE, M. C. P.; FERREIRA, J. F. Eficiência comparada do cultivo da vieira *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Pectinidae) em diferentes densidades e profundidades. **Biotemas**, v. 19, n. 2, p. 37-45, 2006.
- 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.
- ALFARO, A C. Evidence of cannibalism and benthic-pelagic coupling within the life cycle of the mussel, *Perna canaliculus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 329, p. 206– 217, 2006.
- ALIGIZAKI, K.; NIKOLAIDIS, G.; KATIKOU, P.; BAXEVANIS, A. D.; ABATZOPOULOS, T. J.. Potentially toxic epiphytic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species in Greek coastal Waters. **Harmful Algae**, 2008. In press.
- ARAI, M.; LANA, C. C. Histórico do Estudo de Dinoflagelados Fósseis no Brasil: sua Relação com a Evolução da Exploração Petrolífera no Cretáceo das Bacias da Margem Continental. **B. Geoci. Petrobras**, v. 12, n. 1, p. 175-189, 2004.
- AUBRY, F. B.; BERTON, A.; BASTIANINI, M.; BERTAGGIA, R.; BARONI, A.; SOCAL, G. Seasonal Dynamics of *Dinophysis* in Coastal Waters of the NW Adriatic Sea (1990-1996) **Botanica Marina**, V. 43, n° 5, p. 423–430, 2005.
- AURIEMMA, R.; BATTISTELLA, S. Biochemical and histological alterations of *Mytilus galloprovincialis* digestive gland after exposure to okadaic acid and derivatives. **ISJ**. v. 1, p. 66-71, 2004.
- AZEVEDO, F. A.; LIMA, I. V. Toxicocinética. In: AZEVEDO F. A.; CHASIN, A. M. (Coord.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: Rima, 2003. p. 27-92.
- BALECH, E. Dinoflagelados tecados tóxicos del Cono Sur Americano. In: **Floraciones algales nocivas en el Cono Sur Americano**. SAR, E. A.; FERRARIO, M. E.; REGUERA, B. (Ed.) Madrid: Instituto Español de Oceanografía, 2002. p. 125-144.
- BARBOSA, M. B. **A influência da maré na distribuição do microfitoplâncton na Baía de Guanabara**. 1997. 25f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização). Curso de Especialização em Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1997.



BARRACCO, M. A. A. M.; SILVA, P. M. Hemolinfa e sistema imune. In: RESGALLA JR., C.; CONCEIÇÃO, M. B.; WEBER, L. I. (Org.). **O mexilhão *Perna perna* (L): biologia, ecologia e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 85-103.

BASTOS, D. *Dinophysis acuminata*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=76&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=76&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009a.

BASTOS, D. *Dinophysis brevisulcus*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=88&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=88&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009b.

BASTOS, D. *Dinophysis caudata*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=77&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=77&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009c.

BASTOS, D. *Dinophysis circumsutum*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=89&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=89&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009d.

BASTOS, D. *Dinophysis exigua*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=91&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=91&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009e.

BASTOS, D. *Dinophysis fortii*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=78&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=78&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009f.

BASTOS, D. *Dinophysis minuta*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em: <[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=92&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=92&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009g.

BASTOS, D. *Dinophysis ovata*. In: **Atlas de fitoplâncton e protozooplâncton de extremo sul do Brasil**. Laboratório de Ecologia e Microorganismos Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. Disponível em:

<[http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos\\_site.php?id=93&acao=exibir](http://www.lei.furg.br/taxonomia/site/organismos_site.php?id=93&acao=exibir)>. Acesso em: 05 jan. 2009h.

BASTOS, A. C.; GARCIA, A. N. **Monitoramento Ambiental Projeto Recifes Artificiais Marinhos**: Victory 8b. 2º Relatório. Departamento de Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal do Espírito Santo. 2005. 171p.

BASTOS, M. P.; MELLO, S.; SAAD, A.; MOSCHEN 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. Disponível em: <<http://www.ufmg.br/congrent/Meio/Meio54.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2007.

BATES S. S. Ecophysiology and metabolism of amnesic shellfish poisoning toxin production. In: ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D.; HALLEGRAEFF, G. M. (Ed.). **Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms**. v. 41. Bermuda: Ecological Sciences, 1996. p. 405-426.

BAUDER, A.; CEMBELLA, A. D.; QUILLIAM, M. A. Dynamics of diarrhetic shellfish toxins from the dinoflagellate, *Prorocentrum lima*, in the Bay Scallop, *Argopecten irradians*. In: YASSUMOTO, T.; OSHIMA, Y.; FUKUYO, Y. (Ed.). **Harmful and Toxic Algal Blooms**. Sendai: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 1996. p. 433-436.

BLAGHEN, M.; BOUHALLAOUI, A.; TALEB, H.; IDRISSE, H.; TAGMOUTI, F.; TALBI, M.; FELLAT-ZARROUCK, K. Okadaic Acid and its Interaction With Sodium, Potassium, Magnesium and Calcium Ions: Complex Formation and Transport Across a Liquid Membrane. **Toxicon**, v. 35, n. 6, p. 843-847, 1997.

BLANCO, J.; MARIÑO, C.; MARTÍN, H.; ACOSTA, C. P. Anatomical distribution of diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. **Toxicon**, v. 50, p. 1011–1018, 2007a.

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.

BELO, W. C. O. Fundo marinho de baía de Ilha Grande, RJ: evidências da ação de correntes e de ondas no canal central com base em formas de fundo observadas em registros de sonar (100 kHz). **Revista Brasileira de Geofísica**, Vol. 20 (1), P. 18-30, 2002.

BENINGER, P. G.; ST-JAMES, S. D. Particle processing on the labial palps of *Mytilus edulis* and *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia). **Marine Ecology Progress Series**, v. 147, p. 117-127, 1997.

BLUNDEN, G. Biologically Active Compounds from Marine Organisms - review. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 89–94, 2001.

BORTHAGARAY, A. I.; CARRANZA, A. Mussels as ecosystem engineers: Their contribution to species richness in a rocky littoral community. **Acta Oecologica**, v. 31, p. 243–250, 2007.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa n. 53 de 02 de julho de 2003. Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Sanidade de Animais Aquáticos. Diário oficial da União de 04 de julho de 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2261>>. Acesso em: 16 mai. 2006.

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.

BROWN, R. K.; TURNBULL, A. R. Biotoxin Management Plan for the Tasmanian Shellfish Quality Assurance Program. Tasmania Department of Health and Human Services. 29f. 2008. Disponível em: <[http://www.dhhs.tas.gov.au/\\_data/assets/pdf\\_file/0010/32032/BiotoxManPlan\\_2008.pdf](http://www.dhhs.tas.gov.au/_data/assets/pdf_file/0010/32032/BiotoxManPlan_2008.pdf)>. Acesso em: 27 fev. 2009.

BURGESS, V.; SHAW, G. Pectenotoxins – An Issue for Public Health. A Review of Their Comparative Toxicology and Metabolism. **Environment International**, v.27, p.275-283, 2001.

BURNS, D. A.; MITCHEL, J. S. Dinoflagellates of the genus *Dinophysis* Ehrenberg from New Zealand coastal waters. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, V. 16, p. 289-298, 1982.

CARBALLAL, M. J.; LOPEZ, M. C.; AZEVEDO, A.; VILLALBA, A. Hemolymph cell types of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 29, p. 127-135, 1997.

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

CARVALHO PINTO-SILVA, C.R.; FERREIRA, J.F.; COSTA, R.H.R.; BELLI FILHO, P.; CREPPY, E.E.; MATIAS, W.G. Micronucleus induction in mussels exposed to okadaic acid. **Toxicon**, v. 41, p. 93–97, 2003.

CARVALHO, W. F.; MINNHAGEN, S.; GRANALI, E. *Dinophysis norvegica* (Dinophyceae), more a predator than a producer? **Harmful Algae**, v.7, p. 174–183, 2008. CEMBELLA, A. D. Occurrence of okadaic acid, a major diarrheic shellfish toxin, in natural populations of *Dinophysis* spp. from the eastern coast of North America. **Journal of Applied Phycology**, v. 1, n° 4, p. 307-310, 1989.

CEMBELLA, A. D. 1989. Occurrence of okadaic acid, a major diarrheic shellfish toxin, in natural populations of *Dinophysis* spp. from the eastern coast of North América. **Journal of Applied Phycology**, v. 1, p. 307-310, 1989.

CEMBELLA, A. D. Ecophysiology and metabolism of paralytic shellfish poisoning toxin in marine microalgae. In: ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D.; HALLEGRAEFF, G. M. (Ed.). **Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms**. v. 41. Bermuda: Ecological Sciences, 1996. p. 381-403.

CEMBELLA, A. D.; WRIGHT J. L. C. Ecophysiology and biosynthesis of polyether marine biotoxins. In: ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D.; HALLEGRAEFF, G. M. (Ed.). **Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms**. v. 41. Bermuda: Ecological Sciences, 1996. p. 427-451

CORDIER, S.; MONFORT, M.; MIOSSEC, L.; RICHARDSON, S.; BELIN, C. Ecological analysis of digestive cancer mortality related to contamination by diarrhetic shellfish poisoning toxins along the coasts of France. **Environmental Research Section A**, v. 84, p.145-150, 2000.

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

DELA-CRUZ, J.; MIDDLETON, J. H.; SUTHERS, I. M. Population growth and transport of the red tide dinoflagellate, *Noctiluca scintillans*, in the coastal waters off Sydney Australia, using cell diameter as a tracer. **Limnol. Oceanogr.**, v. 48, n° 2, p. 656–674, 2003.

DELMAS, D.; HERBLAND, A.; MAESTRINI, S. Y. Do *Dinophysis* spp. Come from the 'open sea' along the french Atlantic coast? In: **Toxic Phytoplankton Bloom in the Sea**, SMAYDA, T. J., SHIMIZU, Y. (ed.), p. 489-494, 1993.

DELMAS, D.; HERBLAND, A.; MAESTRINI, S. Y. Environmental conditions which lead to increase in cell density of the toxic dinoflagellates *Dinophysis* spp. in nutrient-rich and nutrient poor waters of the French Atlantic coast. **Marine Ecology Progress Series**, vol. 89, p. 53-61, 1992.

DENARDOU-QUENEHERVE, A.; GRZEBYK, D.; POUCHUS, Y.F.; SAUVIAT, M.P.; ALLIOT, E.; BIARD, J.F.; BERLAND, B.; VERBIST, J.F. Toxicity of French strains of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* experimental and natural contaminations of mussels. **Toxicon**, v. 37, p. 1711-1719, 1999.

DIEGUES, A. C. **Para uma aquicultura sustentável do Brasil**. Artigos n°. 3. São Paulo: NUPAUB-USP, 2006. 26 p.

DRAISCI, R.; LUCENTINI, L.; GIANNETTI, L.; BORI, P.; POLETT, R. First report of pectenotoxin-2 (PTX-2) in algae (*Dinophysis fortii*) related to seafood poisoning in europe. **Toxicon**, v. 34, n. 8, p. 923-935, 1996.

DUCHEMIN, M. B.; WESSEL, N.; FOURNIER, M.; AUFFRET, M. Flow cytometric measurement of the clearance rate in the blue mussel *Mytilus edulis* and the development of a new individual exposure system for aquatic immunotoxicological studies. **Environmental Pollution**, v. 153, p. 492-496, 2008.

DUINKER, A.; TORSTENSEN, B. E.; LIE, Ø. Lipid classes and fatty acid composition in female gonads of great scallops – a selective field study. **Journal of Shellfish Research**, v. 23, n. 2, p. 507–514, 2004.

ELBRÄCHTER, M.; FAUST, M. A. Dinoflagellates – Ordem Prorocentrales. In: MOESTRUP, Ø. (Ed.). **IOC Taxonomic Reference List of Toxic Algae**. Intergovernmental

Oceanographic Commission of UNESCO. Disponível em: <<http://www.ioc.unesco.org/hab/data.htm>>. Acesso em: 18 out. 2004.

ERLANDSSON, J.; MCQUAID, C.D.; KOSTYLEV, V.E. Contrasting spatial heterogeneity of sessile organisms within mussel (*Perna perna* L.) beds in relation to topographic variability. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 314, p. 79–97, 2005.

ESCALERA, L.; PAZOS, Y.; MOROÑO, A.; REGUERA, B. *Noctiluca scintillans* may act as a vector of toxigenic microalgae. **Harmful Algae**, v. 6, p. 317–320, 2007.

ESKINASI-LEÇA, E. E.; PASSAVANTE, J. Z. O. Estudo da plataforma continental na área do Recife (Brasil) - IV Aspectos quantitativos do fitoplâncton. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v. 13, p. 83-106, 1972.

FEHLING, J.; DAVIDSON, K.; BOLCH, C.; TETT, P. Seasonality of *Pseudo-nitzschia* spp. (Bacillariophyceae) in western Scottish waters. **Marine Ecology Progress Series**, Vol. 323, p.91–105, 2006.

FENSOME, R. A.; TAYLOR, F. J. R.; NORRIS, G.; SARJEANT, W. A. R.; WHARTON, D. I. **A Classification of Living and Fossil Dinoflagellates, Micropaleontology, Special Publication Number 7**. Pennsylvania: Sheridan Press, 1993. 351p.

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.

FERREIRA, V. M. **Detecção de ácido ocadáico 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.; 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](http://www.sbfic.org.br/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=29&Itemid=51)> Acesso em: 23 nov. 2008.

FERREIRA, J. F.; MAGALHÃES, A. R. M. Cultivo de mexilhões. In: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). **Aquicultura – Experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa Editora, 2004. p. 211-250.

FISTAROL, G. O.; LEGRAND, C.; SELANDER, E.; HUMMERT, C.; STOLTE, W.; GRANÉLI, E. Allelopathy in *Alexandrium* spp.: effect on a natural plankton community and on algal monocultures. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 35, p. 45–56, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Marine Biotoxins**. FAO Food and Nutrition Paper, n. 80. Roma: FAO, 2004. 294p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **National Aquaculture Sector Overview: Brasil**. Disponível em: <[http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_brazil/en#tcNB0122](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_brazil/en#tcNB0122)>. Acesso em: 21 jul. 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs**. Oslo: FAO/IOC/WHO, 2004. 40p. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotoxin\\_report\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotoxin_report_en.pdf)>. Acesso em: 10 mai. 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **State of World Aquaculture**. FAO Fisheries Technical Paper, n. 500. Roma: FAO, 2006a. 134p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Síntesis regional del desarrollo de la acuicultura 1. América Latina y el Caribe – 2005**. FAO Circular de Pesca, n° 1017/1. Roma: FAO, 2006b. 177 p.

FUJITA, C. C.; ODEBRECHT, C. Short term variability of chlorophyll a and phytoplankton composition in a shallow area of the Patoa Lagoon estuary (souther Brazil). **Atlântica**, v. 29, n° 2, p. 93-106, 2007.

GALIMANY, E.; SUNILA, I.; HÉGARET, H.; RAMÓN, M.; WIKFORS, G. H.. Pathology and immune response of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) after an exposure to the harmful dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. **Harmful Algae**, v. 7, p. 630–638, 2008.

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.

GASIŪNAITE, Z.R.; CARDOSO, A.C.; HEISKANEN, A.-S.; HENRIKSEN, P.; KAUPPILA, P.; OLENINA, I.; PILKAITYTE, R.; PURINA, I.; RAZINKOVAS, A.; SAGERT, S.; SCHUBERT, H.; WASMUND, N. Seasonality of coastal phytoplankton in the Baltic Sea: Influence of salinity and eutrophication. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 65, p. 239-252, 2005.

GLOBAL ECOLOGY AND OCEANOGRAPHY OF HARMFUL ALGAL BLOOMS – GEOHAB. **Título**. Report from a Joint IOC/SCOR Workshop. Denmark: GEOHAB, 1998.

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

GRANÉLLI, E., JOHANSSON, N.; PANOSSO, R. Cellular toxin contents in relation to nutrient condition for different groups of phycotoxins. 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. 321-324.

GRANÉLI, E.; WEBERG, M.; SALOMON, P. S. Harmful algal blooms of allelopathic microalgal species: The role of Eutrophication. **Harmful Algae**, v. 8, p. 94–102, 2008.

HALLEGRAEFF, G. M. **Red tides in Australasian region**. CSIRO Marine Laboratories, Report n° 187. 19f., 1987.

HALLEGRAEFF, G. M. Harmful algal blooms: a global overview. In: HALLEGRAEFF, G.M.; ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D. (Ed.). **Manual on Harmful Marine Microalgae**, Monographs on Oceanographic Methodology 11. 2. ed. France: Unesco Publishing, 2004. p. 25-49.

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

HALLEGRAEFF, G. M.; LUCAS, I. A. N. The marine dinoflagellate genus *Dinophysis* (Dinophyceae): photosynthetic, neritic and non-photosynthetic, oceanic species. **Phycologia**, v. 27, p. 25-42, 1988.

HANSEN, P. J. *Dinophysis* - a planktonic dinoflagellate genus which can act both as a prey and a predator of a ciliate. **Marine Ecology Progress Series**, v. 69, p. 20-204, 1991.

HAY, M. E.; KUBANEK, J. Community and ecosystem level consequences of chemical cues in the plankton. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 10, 2002.

HELM, M. M.; BOURNE, N. **Cultivo de Bivalvos em Criadero – Un manual práctico**. FAO Documento Técnico de Pesca n. 471. Roma: FAO, 2006. 182 p.

HÉGARET, H.; WIKFORS, G. H.; SHUMWAY, S. E. Diverse feeding responses of five species of bivalve mollusc when exposed to three species of harmful algae. **Journal of Shellfish Research**, v. 26, n. 2, p. 549–559, 2007.

HEISLER, J.; GLIBERT, P.M.; BURKHOLDER, J.M.; ANDERSON, D.M.; COCHLAN, W.; DENNISON, W.C.; DORTCH, Q.; GOBLER, C.J.; HEIL, C.A.; HUMPHRIES, E.; LEWITUS, A.; MAGNIEN, R.; MARSHALL, H.G.; SELLNER, K.; STOCKWELL, D.A.; STOECKER, D.K.; SUDDLESON, M. Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. **Harmful Algae**, v. 8, p. 3–13, 2008.

HOLMES, M. J.; LEE, F. C.; KHOO, H. W. Production of 7-deoxy-okadaic acid by a new caledonian strait of *Prorocentrum lima* (Dinophyceae). **Journal of Phycology**, v. 37, p. 280-288, 2001.

HOSHIAI, G.; SUZUKI, T.; IGARASHI, T.; KAMIYAMA, T.; YAMASAKI, M.; CHIBA, A. The origin of high concentration of dinoflagellate *Dinophysis acuminata* that occurred in Kesenuma bay, northern Japan. **Fish. Sci.** N° 2, p. 27-31, 2002.

HOSHIAI, G.; SUZUKI, T.; KAMIYAMA, T.; YAMASAKI, M.; ICHIMI, K. Water temperature and salinity during the occurrence of *Dinophysis fortii* and *D. acuminata* in Kesenuma Bay, northern Japan. **FISHERIES SCIENCE**, v. 69, p. 1303–1305, 2003.

HU, T.; BURTON, I.; CURTIS, J. M.; QUILLIAM, M. A.; WALTER, J. A.; WINDUST, A. J.; WRIGHT, J. L. C. Oxidative transformation of a naturally occurring okadaic acid diol ester by the diatom *Thalassiosira weissflogii*. **Tetrahedron Letters**, v. 40, p. 3981-3984, 1999.

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.

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.

IWASAKI, J. The mechanism of mass occurrence of *Dinophysis fortii* along the coast of Ibaraki Prefecture. **Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.** N° 48, p. 125-136, 1986.

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

JANSEN, S.; RISER, C. W.; WASSMANN, P.; BATHMANN, U. Copepod feeding behaviour and egg production during a dinoflagellate bloom in the North Sea. **Harmful Algae**, v. 5, p. 102–112, 2006.

JOHANSSON, N.; GRANÉLLI, E.; YASSUMOTO, T.; CARLSSON, P.; LEGRAND, C. **Toxin Production by *Dinophysis acuminata* and *D. acuta* cells Growth Under Nutrient Sufficient and Deficient Conditions**. In: YASSUMOTO, T.; OSHIMA, Y.; FUKUYO, Y. (Ed.). **Harmful and Toxic Algal Blooms**. Sendai: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 1996. p. 277-280.

KAMIYAMA, T.; SUZUKI, T. Production of dinophysistoxin-1 and pectenotoxin-2 by a culture of *Dinophysis acuminata* (Dinophyceae). **Harmful Algae**, v. 8, p. 312–317, 2009.

KAT, M. Diarrhetic mussel poisoning in the Netherlands related to the dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 49, n° 4-5, p. 417-427, 1983.

KLÖPPER, S.; SCHAREK, R.; GERDTS, G. Diarrhetic shellfish toxicity in relation to the abundance of *Dinophysis* spp. In the German Bight near Helgoland. **Marine Ecology Progress Series**, v. 259, p. 93–102, 2003.

KOIKE, K.; SEKIGUCHI, H.; KOBIYAMA, A.; TAKISHITA, K.; KAWACHI, M.; KANAE KOIKE; OGATA, T. A Novel Type of Kleptoplastidy in *Dinophysis* (Dinophyceae): Presence of Haptophyte-type Plastid in *Dinophysis mitra*. **Protist**, v. 156, p. 225–237, 2005.

KOUKARAS, K.; NIKOLAIDIS, G. *Dinophysis* blooms in Greek coastal waters (Thermaikos Gulf, NW Aegean Sea). **Journal of Plankton Research**, v. 26, n° 4, p. 445–457, 2004.



KOZLOWSKY-SUZUKI, B.; CARLSSON, P.; ALEXANDER RÜHL, A.; GRANÉLI, E. Food selectivity and grazing impact on toxic *Dinophysis* spp. by copepods feeding on natural plankton assemblages. **Harmful Algae**, v. 5, p. 57–68, 2006.

LAGOS, N. Principales toxinas de origen fitoplanctónico: identificación y cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). 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. 55-76.

LAING, I.; SPENCER, B. E. **Bivalve cultivation: criteria for selecting a site**. Leaflet published by Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science – CEFAS. Lowestoft: CEFAS, 1997. 42p.

LARSEN, J.; MOESTRUP, Ø. **Potentially Toxic Phytoplankton. 2 Genus Dinophysis (Dinophyceae)**. Identification Leaflets for Plankton. Leaflet n. 180. International Council for the Exploration of the Sea – ICES. Copenhagen: ICES, 1992. 12p.

LEAL, J. H. **Bivalves**. Florida: Bailey-Matthews Shell Museum. 74p. Disponível em: <<http://www.shellmuseum.org/BivalvesLeal.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2008.

LEE, J. S.; YANAGI, T.; KENMA, R.; YASSUMOTO, F. Fluorimetric Determination of Diarrhetic Shellfish Toxins by High-Performance Liquid Chromatography. **Agric. Biol. Chem.**, v. 51, n. 3, p. 887-881, 1987.

LEGRAND, C.; RENGEFORS, K.; FISTAROL, G. O.; GRANÉLI, E. Allelopathy in phytoplankton – biochemical, biological and evolutionary aspects. **Phycologia**, v. 42, n. 4, p. 406-419, 2003.

LE PENNEC, M.; PAUGAM, A.; LE PENNEC, G. The pelagic life of the pectinid *Pecten maximus* – a review. **ICES Journal of Marine Science**, v. 60, p. 211–223, 2003.

LI, Y.; QIN, J. G.; LI, X.; BENKENDORFF, K. Monthly variation of condition index, energy reserves and antibacterial activity in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in Stansbury (South Australia). **Aquaculture**, 2008. In press.

LINDAHL, O.; LUNDVE, B.; JOHANSEN, M. Toxicity of *Dinophysis* spp. in relation to population density and environmental conditions on the Swedish west coast. **Harmful Algae**, v. 6, p. 218–231, 2007.

LODEIROS, C. J.; RENGEL, J. J.; GUDERLEY, H. E.; NUSETTI, O.; HIMMELMAN, J. H. Biochemical composition and energy allocation in the tropical scallop *Lyropecten/Nodipecten nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. **Aquaculture**, v. 199, p. 63–72, 2001.

LODEIROS, C. J.; RENGEL, J. J.; FREITES, L.; MORALES, F.; HIMMELMAN, J. H. Growth and survival of the tropical scallop *Lyropecten\_Nodipecten/nodosus* maintained in suspended culture at three depths. **Aquaculture**, v. 165, p. 41–50, 1998.

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 ocadáico 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, 2007. Disponível em: <<http://www.uff.br/rbcv/site/index.php/numeros/view/6>>. Acesso em: 02 jul. 2008.

LU, S.; HODGKISS, I. J. Harmful algal bloom causative collected from Hong Kong waters. **Hydrobiologia**, v. 512, p. 231–238, 2004.

LUVEN, M.; GUILLAUD, J. F.; YOUÉNOU, A.; CRASSOUS, M. P.; BERRIC, R.; LE GALL, E.; KÉROUEL, R.; CLAIRE LABRY, C.; AMINOT, A. Nutrient and phytoplankton distribution in the Loire River plume (Bay of Biscay, France) resolved by a new Fine Scale Sampler. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 65, n° -2, p. 94-108, 2005.

MACEDO, C. X. **Dinâmica temporal de microalgas de zona de arrebentação na Praia de Navegantes – SC**. 2007. 93f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos). Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 2007.

MACKENZIE, L.; BEUZENBERG, V.; HOLLAND, P.; MCNABB, P.; SUZUKI, T.; SELWOOD, A. Pectenotoxin and okadaic acid-based toxin profiles in *Dinophysis acuta* and *Dinophysis acuminata* from New Zealand. **Harmful Algae**, v. 4, p. 75–85, 2005.

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.

MALAGOLI, D.; CASARINI, L.; OTTAVIANI, E. Effects of the marine toxins okadaic acid and palytoxin on mussel phagocytosis. **Fish & Shellfish Immunology**, v.24, p.180-186, 2008.

MANEIRO, I.; GUISANDE, C.; FRANGÓPULOS, M.; RIVEIRO, I. Importance of copepod faecal pellets to the fate of the DSP toxins produced by *Dinophysis* spp. **Harmful Algae**, v. 1, p. 333–341, 2002.

MARASIGAN, A. N.; SATO, S.; FUKUYO, Y.; KODAMA, M. Accumulation of a high level of diarrhetic shellfish toxins in the green mussel *Perna viridis* during a bloom of *Dinophysis caudata* and *Dinophysis miles* in Sapiian Bay, Panay Island, the Philippines. **Fisheries Science**, v. 67, p. 994–996, 2001.

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.

MARASOVIC, I.; NINCEVIC-GLADAN, Z.; SKEJIC, S.; GRBEC, B.; BUZANCIC, M.; UJEVIC, I. Temporal distribution of *Dinophysis* spp. in relation to diarrhetic shellfish poisoning shellfish toxicity. **International Journal of Environment and Health**, v. 1, n° 3, p. 493-506, 2007.

MARINÉ, G. F. **Detecção de ácido ocadaico 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.

MATSUYAMA, Y.; USUKI, H.; UCHIDA, T.; KOTANI, Y. Effects of harmful algae on the early planktonic larvae of the oyster *Crassostrea gigas*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMFUL ALGAL BLOOMS, 9., 2001. **Conference Proceedings of 9<sup>th</sup> International Conference on Harmful Algal Blooms**. Australia: Intergovernmental Oceanographic Commission/UNESCO, 2001. p. 411-414.

MCCARRON, P.; KILCOYNE, J.; HESS, P. Effects of cooking and heat treatment on concentration and tissue distribution of okadaic acid and dinophysistoxin-2 in mussels (*Mytilus edulis*). **Toxicon**, v. 51, p. 1081–1089, 2008.

MENDOZA, Y.; FREITES, L.; LODEIROS, C. J.; LÓPEZ, J. A.; HIMMELMAN, J. H. Evaluation of biological and economical aspects of the culture of the scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* in suspended and bottom culture. **Aquaculture**, v. 221, p. 207–219, 2003.

MINCHIN, D. Introductions: some biological and ecological characteristics of scallops. **Aquat. Living Resour**, v. 16, p. 521–532, 2003.

MOESTRUP, Ø. (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 nov. 2008.

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.

MOSER, G. A. O.; BELEM, J. S.; CARNEIRO, M. Descrição de uma maré vermelha, causada por *Mesodinium rubrum* (Lohmann, 1908), na plataforma interna de Santos (SP, Brasil). In: XXV Congresso de Ciencias del Mar y XI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, 2005, Viña Del Mar, Chile. Disponível em: <<http://www.alicmar.org/congresos/documentos/decimoPrimero/Resumenes.pdf>>. Acesso em: 19 fev. 2009.

MOSER, G. A. O.; CIOTTI, A. M.; GIANINNI, M. F.; TONINI, R. .; HARARI, J. Dissolved and particulate algal and non-algal matter distribution related to hydrography in Santos Bay

(Brazil). In: ASLO AQUATIC SCIENCES MEETING, 2009, Nice. Disponível em: <<http://www.sgmeet.com/aslo/nice2009/viewabstract2.asp?AbstractID=5763>>. Acesso em: 28 jan. 2009.

MOURATIDOU, T.; KANIOU-GRIGORIADOU, I.; SAMAR, C.; KOUIMTZIS, T. Detection of the marine toxin okadaic acid in mussels during a diarrhetic shellfish poisoning (DSP) episode in Thermaikos Gulf, Greece, using biological, chemical and immunological methods. **Science of the Total Environment**, v. 366, p. 894–904, 2006.

NASCIMENTO, S. M.; PURDIEA, D. A.; MORRIS, S. Morphology, toxin composition and pigment content of *Prorocentrum lima* strains isolated from a coastal lagoon in southern UK. **Toxicon**, v. 45, p. 633–649, 2005.

NAVES, J. L.; PRADO, M. P.; RANGEL, M.; DE SANCTIS, B.; MACHADO-SANTELLI, G.; FREITAS, J. C. Cytotoxicity in the marine dinoflagellate *Prorocentrum mexicanum* from Brazil. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 143, part C, p.73–77, 2006.

NGUYEN, N. V.; HA, D. V.; TUNG, L. T. *Dinophysis* spp recorded in coastal waters of northern Vietnam during 2002-2003. **Coastal Marine Science**, v. 30, n° 1, p. 107-110, 2006.

NISHITANI, G.; SUGIOKA, H.; IMAI, I. Seasonal distribution of species of the toxic dinoflagellate genus *Dinophysis* in Maizuru Bay (Japan), with comments on their autofluorescence and attachment of picophytoplankton. **Harmful Algae**, v. 1, p. 253–264, 2002.

NISHITANI, G.; YAMAGUCHI, M.; ISHIKAWA, A.; YANAGIYA, S.; MITSUYA, T.; IMAI, I. Relationships between occurrences of toxic *Dinophysis* species (Dinophyceae) and small phytoplanktons in Japanese coastal waters. **Harmful Algae**, v. 4, n. 4, p. 755-762. 2005.

NORBERG, J.; TEDENGREN, M. Attack behaviour and predatory success of *Asterias rubens* L. related to differences in size and morphology of the prey mussel *Mytilus edulis* L. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 186, p. 207-220, 1995.

NYBAKKEN, J. W. **Marine Biology: An Ecological Approach**. 5. ed. Benjamin Cumming, 2001. 512 p.

O'CONNOR, W.A.; NEWMAN, L.J. Predation of Cultured Mussels, *Mytilus galloprovincialis*, by Stylochid Flatworms, *Imogine mcgrathi*, from Twofold Bay, New South Wales, Austrália. **Asian Fisheries Science**, v. 16, p. 133-140, 2005.

OGILVIE, S. C.; ROSS, A. H.; SCHIE, D. R. Phytoplankton biomass associated with mussel farms in Beatrix Bay, New Zealand. **Aquaculture**, v. 181, p. 71–80, 2000.

OLIVEIRA, F. S. C. **Estimativa de captura do bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*) na costa sudeste do Brasil usando um modelo estatístico e dados de sensoriamento remoto**. 2006. 117f. Dissertação (Mestre em Sensoriamento Remoto). Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos. 2006.

- OLIVEIRA, G.M.; SILVA, P.P.O.; ROSA, C.A.R.; BASTOS, R.A.; FERREIRA, V.M. RODRIGUES. E.S. Detecção de ácido okadaico por cromatografia líquida de alta eficiência em mariscos (*Perna perna*) capturados em la bahía de Sepetiba. **Revista Alimentaria**, v. 366, p. 56-61, 2005.
- ORBAN, E.; DI LENA, G.; NEVIGATO, T.; CASINI, I.; MARZETTI, A.; CAPRONI, R. Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. **Food Chemistry**, v. 77, p. 57-65, 2002.
- PARK, M. G.; KIM, S.; KIM, H. S.; MYUNG, G.; KANG, Y. G.; YIH, W. First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. **Aquatic microbial ecology**, v. 45, n. 24, p. 101-106, 2006.
- 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.
- PAZ, B.; DARANAS, A. H.; CRUZ, P. G.; FRANCO, J. M.; NAPOLITANO, J. G.; NORTE, M.; FERNANDEZ, J. J. Identification and characterization of DTX-5c and 7-hidroxymethyl-2-methylene-octa-4,7-dienyl okadaate from *Prorocentrum belizeanum* cultures by LC-MS. **Toxicon**, v. 50, p. 470-478, 2007.
- PERSICH, G. R.; GARCIA, V. M. T. Ocorrência de cistos de dinoflagelados, com ênfase em espécies potencialmente nocivas, no sedimento próximo à desembocadura da Laguna dos Patos (RS). **Atlântica**, v. 25, n° 2, p.123-133, 2003.
- PLUMEY, F. G. Marine Algal Toxins: Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 5, part 2, p.1252-1264, 1997.
- POLI, C. R. Cultivo de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*). In: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). **Aquicultura – Experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa Editora, 2004. p. 251-288.
- POLAT, S.; KORAI, T. Planktonic dinoflagellates of the northern Levantine Basin, northeastern Mediterranean Sea. **European Journal of Protistology**, v. 43, p. 193-204, 2007.
- PROENÇA, L. A. O. A red water caused by *Mesodinium rubrum* on the coast of Santa Catarina, southern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 52, n. 2, p. 153-161, 2004.
- PROENÇA, L. A. O.; VILLAC, M. C. Informe Nacional – Brasil. In: TALLER REGIONAL DE PLANIFICACIÓN CIENTÍFICA SOBRE FLORACIONES DE ALGAS NOCIVAS EN SUDAMÉRICA, 6., 2003, Guaiaquil. Título dos anais. Guaiaquil: FANSA/COI/UNESCO, 2003. p.
- 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.

- PRINCE, E. K.; MYERS, T. L.. Effects of harmful algal blooms on competitors: Allelopathic mechanisms of the red tide dinoflagellate *Karenia brevis*. **Limnol. Oceanogr.**, v. 53, n. 2, p. 531–541, 2008.
- PUENTE, P. F.; SAEZ, M. J. F.; HAMILTON, B.; FUREY, A.; JAMES, K. J. Studies of polyether toxins in the marine phytoplankton, *Dinophysis acuta*, in Ireland using multiple tandem mass spectrometry. **Toxicon**, v. 44, p. 919–926, 2004.
- 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.
- RADI, T.; POSPELOVA, V.; VERNAL, A.; BARRIE, V. J. Dinoflagellate cysts as indicators of water quality and productivity in British Columbia estuarine environments. **Marine Micropaleontology**, v. 62, p. 269–297, 2007.
- RAHO, N.; PIZARRO, G.; ESCALERA, L.; REGUERA, B.; MARÍN, I. Morphology, toxin composition and molecular analysis of *Dinophysis ovum* Schütt, a dinoflagellate of the “*Dinophysis acuminata* complex”. **Harmful Algae**, v. 7, p. 839–848, 2008.
- REGUERA, B.; BRAVO, I.; FRAGA, S. Autoecology and some life history stages of *Dinophysis acuta* Ehrenberg. **Journal of Plankton Research**, Vol.17, no.5, p.999-1015, 1995.
- 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.
- REIZOPOULOU, S.; STROGYLOUDI, E.; GIANNAKOUROU, A.; PAGOU, K.; HATZIANESTIS, I.; PYRGAKI, C.; GRANÉLI, E. Okadaic acid accumulation in macrofilter feeders subjected to natural blooms of *Dinophysis acuminata*. **Harmful Algae**, v. 7, p. 228–234, 2008.
- RESGALLA JR., C.; BRASIL, E. S.; LAITANO, K. S.; REIS FILHO, R. W. Physioecology of the mussel *Perna perna* (Mytilidae) in Southern Brazil. **Aquaculture**, v. 270, p. 464–474, 2007.
- ROCH, P. Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. **Aquaculture**, v. 172, p. 125–145, 1999.
- RODRIGUEZ, C. V.; ARANCIBIA, J. Application of remote sensing of ocean colour to forecast HAB events in Chile. **Harmful Algae News**, v. 23, p. 9, 2002.
- ROMO, S.; TONGEREN, O. V. Multivariate analysis of phytoplankton and related environmental factors, in a shallow hypertrophic lake. **Hydrobiologia**, v. 299, p. 93-101, 1995.

RUPP, G. S.; PARSONS, G. J. Effects of salinity and temperature on the survival and byssal attachment of the lion's paw scallop *Nodipecten nodosus* at its southern distribution limit. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 309, p. 173–198, 2004.

SALOMON, P. S.; JANSON, S.; GISSELSON, L-A.; GRANALI, E. Analytical detection of parasite infection of *Dinophysis norvegica* using FISH probes. **Africal Journal of Marine Science**. V. 28, n°2, p. 353-355, 2006.

SANTHANAM, R.; SRINIVASAP, A. Impact of dinoflagellate *Dinophysis caudata* bloom on the hydrography and fishery potentials of Tuticorin Bay, South Índia. **Harmful and Toxic Algal Blooms**. p. 41-44, 1996.

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.

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.

SEMADS – Secretaria do Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Estado do Rio de Janeiro (2001) **Macroplano de Gestão e Saneamento Ambiental**. Bacias Hidrográficas e Recursos Hídricos da Macroregião 2, 4- Bacia de Sepetiba, Projeto Planagua SEMADS/GTZ.

SETÄLÄ, O.; AUTIO, R.; KUOSA, H.; RINTALA, J.; YLÖSTALO, P. Survival and photosynthetic activity of different *Dinophysis acuminata* populations in the northern Baltic Sea. **Harmful Algae**, v. 4, p. 337–350, 2005.

SHEEHAM, D.; POWER, A. Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. **Comparative Biochemistry and Physiology**, part C, v. 123, p.193–199, 1999.

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

SKALOUD, P.; REZACOVA, M.; ELLEGAARD, M. Spatial Distribution of Phytoplankton in Spring 2004 along a Transect in the Eastern Part of the North Sea. **Journal of Oceanography**, Vol. 62, pp. 717-729, 2006.

SMAYDA, T.J. Adaptive ecology, growth strategies and the global bloom expansion of dinoflagellates. **Journal of Oceanography**, v. 58, p. 281–294, 2002.

SMAYDA, T.J. Reflections on the ballast water dispersal—harmful algal bloom paradigm. **Harmful Algae**, v. 6, p. 601–622, 2007.

SONGHUI, L.; ZHOU, M. **Summary of National Report on HABs in China**.

SOURNIA, A. **Atlas du phytoplankton marin**. v. 1. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique, 1986. 216p.

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.

SOUZA, R. B.; ROBINSON, I. S. Lagrangian and satellite observations of the Brazilian Coastal Current. **Continental Shelf Research**, v. 24, p. 241–262, 2004.

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.

SUIKKANEN, S.; LAAMANEN, M.; HUTTUNEN, M. Long-term changes in summer phytoplankton communities of the open northern Baltic Sea. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 71, p. 580-592, 2007.

SUKHOTIN A. A.; PÖRTNER, H.-O. Age-dependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 257, p. 53–72, 2001.

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.

SUZUKI, T.; MITSUYA, T.; IMAI, M.; YAMASAKI, M. DSP toxin contents in *Dinophysis fortii* and scallops collected at Mutsu Bay, Japan. **Journal of Applied Phycology**, v. 8, p. 509-515, 1997.

SUZUKI, T.; MITSUYA, T. Comparison of dinophysistoxin-1 and esterified dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) contents in the scallop *Patinopecten yessoensis* and the mussel *Mytilus galloprovincialis*. **Toxicon**, v. 39, p. 905-908, 2001.

SUZUKI, T.; OTA, H.; YAMASAKI, M. Direct evidence of transformation of dinophysistoxin-1 to 7-O-acyl-dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) in the scallop *Patinopecten yessoensis*. **Toxicon**, v. 37, p. 187-198, 1999.

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

STEVENSON, M. R.; DIAS-BRITO, D.; STECH, J. L.; KAMPEL, M. How do cold water biota arrive in a tropical bay near Rio de Janeiro, Brazil? **Continental Shelf Research**, v. 18, n° 3, p. 1595-1612, nov 1998.



SVENSSON, S. Depuration of Okadaic acid (Diarrhetic Shellfish Toxin) in mussels, *Mytilus edulis* (Linnaeus), feeding on different quantities of nontoxic algae. **Aquaculture**, v. 218, p. 277–291, 2003.

SVENSSON, S.; FÖRLIN, L. Effects of okadaic acid on protein phosphatase and glycogen synthase activities in blue mussel, *Mytilus edulis*, and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. 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.

SVENSSON, S.; FÖRLIN, L. Analysis of the importance of lipid breakdown for elimination of okadaic acid (diarrhetic shellfish toxin) in mussels, *Mytilus edulis*: results from a field study and a laboratory experiment. **Aquatic Toxicology**, v. 66, p. 405–418, 2004.

TAKAHASHI, Y.; TAKISHITA, K.; KOIKE, K.; MARUYAMA, T.; NAKAYAMA, T.; KOBIYAMA, A.; OGATA, T. Development of Molecular Probes for *Dinophysis* (Dinophyceae) Plastid: A Tool to Predict Blooming and Explore Plastid Origin. **Marine Biotechnology**, v. 7, n. 2, p. 95-103, 2005.

TAKISHITA, K.; KOIKE, K.; MARUYAMA, T.; OGATA, T. Molecular Evidence for Plastid Robbery (Kleptoplastidy) in *Dinophysis*, a Dinoflagellate causing Diarrhetic Shellfish Poisoning. **Protist**, v. 153, p. 293–302, 2002.

TAYLOR, F. J. R. Dinoflagellate Morphology. In: TAYLOR, F. J. R. (Ed.). **The Biology of Dinoflagellates**. Botanical Monographs. v. 21. London: Blackwell Scientific Publications, 1987. p. 24-92.

TEN-HAGE, L.; DELAUNAY, N.; PICHON, V.; COUTE, A.; 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. 104-1054, 2000.

TEN-HAGE, L.; ROBILLOT, C.; TURQUET, J.; LE GALL, F.; LE CAER, J. P.; BULTEL, V.; GUYOT, M.; MOLGÓ, J. Effects of toxic extracts and purified borbotoxins from *Prorocentrum borbonicum* (Dinophyceae) on vertebrated muscular junctions. **Toxicon**, v. 40, p. 137-148, 2002.

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.

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.

VALE, P. Differential dynamics of dinophysistoxins and pectenotoxins between blue mussel and common cockle: a phenomenon originating from the complex toxin profile of *Dinophysis acuta*. **Toxicon**, v. 44, p. 123–134, 2004.

VALE, P. Differential dynamics of dinophysistoxins and pectenotoxins, part II: Offshore bivalve species. **Toxicon**, v. 47, p. 163–173, 2006.

VALE, P.; SAMPAYO, M. A. M. Esters of okadaic acid and dinophysistoxin-2 in Portuguese bivalves related to human poisonings. **Toxicon**, v. 37, p. 1109-1121, 1999.

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.

VALENTIN, J. L. Ecologia Numérica – Uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 117p.

VELASCO, L. A. Energetic physiology of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus* fed with different microalgal diets. **Aquaculture**, v. 270, p. 299-311, 2007.

VELASCO, L.A.; BARROS, J.; ACOSTA, E. Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. **Aquaculture**, v. 266, p. 153–165, 2007.

VELEZ, A.; FREITES, L.; HIMMELMAN, J. H.; SENIOR, W.; MARIN, N. Growth of the tropical scallop, *Euvola (Pecten) ziczac*, in bottom and suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. **Aquaculture**, v. 136, p. 257-276, 1995.

VERSHININ, A.; AKATOV, V.; PANKOV, S.; Phytoplankton in NE Black Sea Coastal Waters: Annual Succession, Community Structure, Species Diversity, Interannual Changes in 2001-2006. In: AGU - Chapman Conference on Long Time-Series Observations in Coastal Ecosystems: Comparative Analyses of Phytoplankton Dynamics on Regional to Global Scales Croatia, 2007. p. 72-73. Disponível em: <<http://www.agu.org/meetings/chapman/2007/bcall/Program.pdf>>. Acesso em 19 de fevereiro de 2009.

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). Curso de Bacharelado em Biologia Marinha, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2003.

VILLAC, M. C.; CABRAL-NORONHA, V. A. P.; PINTO, T. O. The phytoplankton biodiversity of the coast of the state of São Paulo, Brazil **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, p.151-173, 2008.

VILLAC, M. C.; TENENBAUM, D. R. The Coastal *Pseudo-Nitzschia* from the State of Rio de Janeiro, Brazil. In: HALLEGRAEFF, GM.; BLACKBURN, S.I.; BOLCH, C.J.; LEWIS, R.J. (Ed.). **Harmful Algal Blooms 2000**. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 2001. p. 34-37

WINDUST, A. J.; WRIGHT, J. L. C.; MCLACHLAN, J. L. The effects of the diarrhetic shellfish poisoning toxins, okadaic acid and dinophysistoxin-1, on the growth of microalgae. **Marine Biology**, v. 126, p. 19-25, 1996.

WINDUST, A. J.; QUILLIAM, M. A.; WRIGHT, J. L. C.; MCLACHLAN, J. L. Comparative toxicity of the diarrhetic shellfish poisons, okadaic acid, okadaic acid diol-ester and dinophysistoxin-4, to the diatom *Thalassiosira weissflogii*. **Toxicon**, v. 35, n. 2, p. 1591-1603, 1997.

WOOD, A. R.; APTE, S.; MACAVOY, E. S.; GARDNER, J. P. A. A molecular phylogeny of the marine mussel genus *Perna* (Bivalvia: Mytilidae) based on nuclear (ITS1&2) and mitochondrial (COI) DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, p. 685–698, 2007.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE. **Aquatic Animal Health Code**. Paris: OIE, 2008 Disponível em: <[http://www.oie.int/eng/normes/fcode/en\\_sommaire.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fcode/en_sommaire.htm)>. Acesso em: 15 jan. 2009.

WULFF, A.; VILBASTE, S.; TRUU, J. Depth distribution of photosynthetic pigments and diatoms in the sediments of a microtidal fjord. **Hydrobiologia**, v. 534, p. 117–130, 2005.

XIE, H.; LAZURE, P.; GENTIEN, P. Small scale retentive structures and *Dinophysis*. **Journal of Marine Systems**, v. 64, p. 173–188, 2007.

YAP, C.K.; ISMAIL, A.; CHENG, W.H.; TAN, S.G. Crystalline style and tissue redistribution in *Perna viridis* as indicators of Cu and Pb bioavailabilities and contamination in coastal waters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 63, p. 413–423, 2006.

YASSUMOTO, T.; OSHIMA, Y., SUGAWARA, W.; FUKUYO, Y.; OGURI, H.; IGARASHI, T.; FUJITA, N. Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism of Diarrhetic Shellfish Poisoning. **Bulletim of Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 46, n° 11, p. 1405-1411, 1980.

ZELDIS, J.; ROBINSON, K.; ROSS, A.; HAYDEN, B. First observations of predation by New Zealand Greenshell mussels (*Perna canaliculus*) on zooplankton. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 311, p. 287– 299, 2004.

ZINGONE, A. Dinoflagellates - Ordem Dinophysiales. In: MOESTRUP, Ø. (Ed.). **IOC Taxonomic Reference List of Toxic Algae**. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Disponível em: <<http://www.ioc.unesco.org/hab/data.htm>>. Acesso em: 18 out. 2004.