UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL

Rodrigo Almeida Ferreira da Silva

Florações de *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae) em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo: histórico dos eventos e impactos sobre ouriços-do-mar

> Rio de Janeiro 2022

Rodrigo Almeida Ferreira da Silva

Florações de *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae) em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo: histórico dos eventos e impactos sobre ouriços-do-mar

> Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

> Orientadora: Dra. Silvia Mattos Nascimento

Catalogação informatizada pelo(a) autor(a)

Silva, Rodrigo Almeida Ferreira da Florações de Ostreopsis cf. ovata (Dinophyceae) em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo: histórico dos eventos e impactos sobre ouriços-do-mar / Rodrigo Almeida Ferreira da Silva. -- Rio de Janeiro, 2022. 50 f
Orientadora: Silvia Mattos Nascimento. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2022.
1. dinoflagelado bentônico. 2. ecologia. 3. algas nocivas. I. Nascimento, Silvia Mattos, orient. II. Título.

Rodrigo Almeida Ferreira da Silva

Florações de Ostreopsis cf. ovata em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo: histórico dos eventos e impactos sobre ouriços-do-mar

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Ciências Biológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, no dia 4 de março de 2022, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Banca Examinadora

Sihria M. Nascimento

Prof^a. Dr^a. Silvia Mattos Nascimento Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Roquel de A.F. Neves

Prof^a. Dr^a. Raquel de Almeida Ferrando Neves Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof^a. Dr^a. Gleyci Aparecida Oliveira Moser Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Agradecimentos

Agradeço a minha família, em especial aos meus pais Adauto e Marisa, pelo apoio incondicional, que permitiu a minha entrada e agora término do mestrado. Agradeço a minha melhor amiga, amor e colega de laboratório, Geovanna, que a 6 anos tem sido responsável pelas melhores experiências da minha vida. Além disso, sua empatia e carinho pelas pessoas que ama, foram essenciais para que eu lidasse com momentos difíceis, como a pandemia. E como se já não bastasse ser uma pessoa de grande coração, ainda consegue ser uma incrível pesquisadora, sendo inspiração para todos os alunos do laboratório, incluindo a mim.

Agradeço a minha orientadora, prof. Silvia M. Nascimento, que desde 2017 compartilha seu amor pela ciência e os dinoflagelados comigo, e tem guiado a minha caminhada para se tornar um profissional melhor, sendo sempre atenciosa e solícita. Obrigado pela ajuda, apoio, compreensão e por toda motivação para a realização desse trabalho.

Agradeço à UNIRIO e ao prof. Carlos H. S Caetano, por permitirem o transporte para o uso de equipamentos do laboratório na minha casa, devido ao fechamento da instituição durante a pandemia, o que viabilizou e diminuiu o atraso nas análises do projeto.

Agradeço ao prof. Carlos E. L. Ferreira que foi responsável por registrar vários eventos de floração de *Ostreopsis* cf. *ovata*, e que a muito tempo é um parceiro do laboratório, trabalhando com a equipe em diversas coletas e até mesmo sozinho, como em parte das amostras aqui analisadas. Agradeço ao prof. José E. A. Gonçalves por disponibilizar os dados de temperatura da água do mar em 2020.

Agradeço aos profs. Luiz L. M. Junior e Mathias A. Schramm por realizarem a análise de toxinas dos ouriços-do-mar coletados em Arraial do Cabo. Agradeço ao prof. Joel C. Paula, pela identificação das macroalgas.

Agradeço aos membros da banca de defesa por aceitarem meu convite e participarem do meu processo de evolução como biólogo: a prof. Gleyci A. O. Moser, que participou de todas as etapas de avaliação do meu projeto ao longo do mestrado, e a prof. Raquel A. F. Neves, que além de compor a minha banca, foi responsável por me ensinar a separar os órgãos dos ouriços-do-mar que passaram pela análise de toxinas. Agradeço aos profs. Priscila K. Lange e Luciano N. Santos por participarem como membros suplentes da minha banca e, ao prof. Luciano, por participar da etapa de qualificação do meu projeto.

Sumário

1.	In	ntrodução
2.	0	bjetivos11
	2.1.	Geral11
	2.2.	Específicos11
3.	Μ	Iaterial e métodos 12
	3.1.	Amostragem de dinoflagelados epi-bentônicos em 2019/202012
	3.3. mete	Registros de florações de <i>O</i> . cf. <i>ovata</i> em Arraial do Cabo e parâmetros eorológicos associados a esses eventos
	3.4.	Análise de ovatoxinas em tecidos de ouriços-do-mar15
4.	R	esultados16
	4.1. Arm	Densidades (2019-2020) de dinoflagelados epi-bentônicos em Arraial do Cabo e nação dos Búzios
	4.2. parâ	Eventos de florações de <i>O</i> . cf. <i>ovata</i> em Arraial do Cabo entre 1998-2021 e àmetros meteorológicos associados a esses eventos
	4.3. de fl	Análise do acúmulo de ovatoxinas em tecidos de ouriços-do-mar durante evento loração em Arraial do Cabo26
5.	D	iscussão29
6.	C	onclusão
7.	R	eferências bibliográficas

Resumo

Ostreopsis cf. ovata é um dinoflagelado epibentônico capaz de sintetizar ovatoxinas, que são análogos da palytoxina (PLTX). No Brasil, florações desta espécie são registradas desde 1998 em Arraial do Cabo (AC), e estão associadas com mortandade em massa do ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*. Esse trabalho analisa o histórico de florações de O. cf. ovata entre 1998-2021 em AC e Armação dos Búzios (AB), e investiga pela primeira vez a presença de análogos da PLTX no tubo digestivo de ouriços-do-mar em AC. Eventos de floração em AC e AB foram registrados entre 1998-2021 através de registro fotográfico em conjunto com a quantificação de dinoflagelados epibentônicos. Dados meteorológicos entre 2006-2021 e da temperatura da água do mar de AC em 2020 foram analisados buscando entender o cenário ambiental que antecedeu tais eventos. Em 2020, as densidades de dinoflagelados epibentônicos foram determinadas em macroalgas coletadas nas praias dos Anjos-AC, Forno-AC, Prainha-AC, Forno-AB e Tartaruga-AB em janeiro, fevereiro, junho e agosto de 2020. A análise da presença de palytoxinas e análogos no tubo digestivo de ouriços-do-mar da praia dos Anjos-AC em janeiro de 2020 foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas. Entre 1998-2021, 19 florações foram encontradas em AC, e 5 em AB. Em 2020, florações de O. cf. ovata foram observadas nas praias dos Anjos-AC (janeiro e maio/junho), Prainha-AC (agosto) e Forno-AB (fevereiro), com densidades máximas de 2,9 x 10⁴ a 3,1 x 10⁵ céls.gPU⁻¹ macroalga. A ressurgência costeira, assim como o lançamento de esgotos domésticos enriquecem as águas rasas com nutrientes, o que provavelmente estimula as florações de O. cf. ovata na região. Em 10 dos 16 eventos registrados entre 2006-2021, houve tendência de aumento nos valores de pressão atmosférica, temperaturas atmosféricas altas e baixa precipitação na semana anterior a cada evento. Ouriços-do-mar das espécies E. lucunter e Lytechinus variegatus foram observados cobertos com biofilme de O. cf. ovata, com perda de espinhos, necrose e mortalidade em massa em 13 dos 19 eventos em AC. Os tubos digestivos de E. lucunter coletados durante uma floração de O. cf. ovata em Anjos-AC apresentaram traços de compostos "PLTX like". A presença desses compostos em ouriçosdo-mar indica os potenciais impactos para a fauna marinha e consumidores humanos de frutos do mar.

Palavras-chave: dinoflagelado bentônico, ecologia, floração de algas nocivas.

Abstract

Ostreopsis cf. ovata is an epibenthic dinoflagellate capable of synthesizing ovatoxins, which are palytoxin analogues (PLTX). In Brazil, blooms of this species have been recorded since 1998 in Arraial do Cabo (AC), and are associated with mass mortality of the sea urchin Echinometra lucunter. This work compiles data on O. cf. ovata blooms in AC and Armação dos Búzios (AB) between 1998 and 2021, and investigate for the first time the presence of PLTX analogues in the digestive tract of sea urchins in AC. Blooms events in AC and AB were recorded between 1998-2021 through biofim photography and the quantification of epibenthic dinoflagellates. Meteorological data between 2006-2021 and the sea water temperature of AC in 2020 were analyzed in order to understand the environmental scenario that preceded such events. In 2020, epibenthic dinoflagellate abundances were determined in macroalgae collected on the beaches of Anjos-AC, Forno-AC, Prainha-AC, Forno-AB and Tartaruga-AB in January, February, June and August 2020. Analysis of the presence of palytoxins and analogues in the digestive tract of sea urchins from Praia dos Anjos-AC in January 2020 was performed by high performance liquid chromatography and mass spectrometry. Between 1998-2021, 19 blooms were found in AC and 5 in AB. In 2020, O. cf. ovata blooms were observed at Anjos-AC (January and May/June), Prainha-AC (August) and Forno-AB (February), with maximum abundances ranging from 2.9 x 10^4 to 3.1 x 10^5 cells.gFW⁻¹ macroalgae. Coastal upwelling, as well as the sewage discharge enrich the shallow coastal waters with nutrients, that is likely to stimulate O. cf. ovata blooms in the region. In 10 of the 16 events analyzed between 2006-2021, there was an increase trend in the values of atmospheric pressure, high atmospheric temperatures and low precipitation in the week before each event. Sea urchins E. lucunter and Lytechinus variegatus were observed covered with biofilm of O. cf. ovata, with loss of spines, necrosis and mass mortality in 13 of the 19 events in AC. E. lucunter guts collected during an O. cf. ovata bloom in Anjos-AC showed traces of PLTX like compounds. The presence of these compounds in sea urchins indicates the potential impacts to marine fauna and human consumers of seafood.

Key-words: benthic dinoflagellate, ecology, Harmful algal blooms.

1. Introdução

Florações de algas nocivas ("Harmful Algal Blooms - HABs") são formadas quando espécies de algas tóxicas e/ou prejudiciais ao ecossistema e à saúde humana atingem densidade suficiente para que seus efeitos sejam notados (Hennon e Dyhrman, 2020). As HABs estão associadas a diversos impactos nos ecossistemas aquáticos, como mortandade em massa de organismos marinhos, consumo e acúmulo de toxinas produzidas pelas microalgas e cianobactérias e hipoxia do ambiente, essa última devido a degradação da elevada biomassa de microalgas pela atividade bacteriana (Berdalet et al., 2016). Entretanto, o principal impacto das HABs está relacionado com os efeitos negativos destas na saúde humana e nas atividades sócio-econômicas, como a aquicultura, pesca e o turismo (Berdalet et al., 2016).

O aumento dos registros das HABs tem sido associado às mudanças climáticas e ações antrópicas (Gobler et al., 2017; Tester et al., 2020; Wells et al., 2015). Uma metaanálise usando dados de séries temporais longas de ocorrência de florações e distribuição de algumas espécies de HABs, mostraram tendências de aumento, diminuição ou estabilidade para diferentes espécies/regiões (Hallegraeff et al., 2021). A intensificação do monitoramento, devido ao aumento de atividades de aquicultura e do turismo, e o surgimento regional de novas síndromes ou impactos de HABs, foi apontado como o fatorchave para o número crescente de registros. Hallegraeff et al. (2021) sugerem que as tendências sobre as HABs devem ser melhor avaliadas espécie por espécie e local a local.

Espécies de dinoflagelados bentônicos, que vivem associados a diferentes substratos como macroalgas, recifes de coral, areia, detritos e rochas são responsáveis por florações nocivas. Dentre os dinoflagelados bentônicos, destacam-se os gêneros *Gambierdiscus* Adachi e Fukuyo (Adachi e Fukuyo, 1979) e *Fukuyoa* Gómez, Qiu, Lopes & Lin (Gómez et al., 2015), ambos produtores de ciguatoxinas e maitotoxinas, responsáveis por causar a doença ciguatera. Além destes, algumas espécies bentônicas do gênero *Prorocentrum* Ehrenberg (Ehrenberg, 1834), podem produzir ácido ocadáico e dinofisistoxinas, responsáveis pela intoxicação diarreica por molusco. Já o gênero *Ostreopsis* produz toxinas potentes e é protagonista de inúmeros eventos de floração no mundo (Berdalet et al., 2017; GEOHAB, 2012).

Atualmente, o gênero Ostreopsis é constituído por 11 espécies nomeadas Ostreopsis siamensis Schmidt (Schmidt, 1901), O. ovata Fukuyo (Fukuyo, 1981), O. *lenticularis* Fukuyo (Fukuyo, 1981), *O. heptagona* Norris, Bomber e Balech (Norris et al., 1985), *O. mascarenensis* Quod (Quod, 1994), *O. labens* Faust e Morton (Faust e Morton, 1995), *O. belizeana* Faust, O. *caribbeana* Faust, *O. marina* Faust (Faust, 1999), *O. fattorussoi* Accoroni, Romagnoli e Totti (Accoroni et al., 2016) e *O. rhodesae* Verma, Hoppenrath e Murray (Verma et al., 2016). Dentre as espécies descritas, oito são consideradas potencialmente tóxicas, pois podem sintetizar análogos da palytoxina, como as ovatoxinas, ostreocinas e mascarenotoxinas (Pavaux et al., 2020).

Eventos de floração de Ostreopsis são recorrentes no Brasil (O. cf. ovata e O. lenticularis; Borsato et al., 2020; Nascimento et al., 2020, 2012b; Tibiricá et al., 2019), Taiti (Ostreopsis sp. 6; Chomérat et al., 2020), Nova Zelândia (O. siamensis; Shears e Ross, 2009) e no Mar Mediterrâneo (O. cf. ovata e O. cf. siamensis; e.g. Accoroni et al., 2015; Cohu et al., 2013, 2011; Mangialajo et al., 2011, 2008; Ninčević Gladan et al., 2019; Pfannkuchen et al., 2012; Tichadou et al., 2010; Totti et al., 2010). No Mediterrâneo, grandes florações de Ostreopsis cf. ovata foram associadas a sintomas como rinorreia, tosse, febre, broncoconstrição com dispneia leve e sibilo em banhistas nas praias (e.g. Berdalet et al., 2016). O evento de intoxicação com maior impacto no Mar Mediterrâneo ocorreu em 2005 na cidade de Gênova (Itália), quando cerca de 200 pessoas foram hospitalizadas (Ciminiello et al., 2006). A intoxicação ocorre através da inalação de aerossóis marinhos, ou por contato direto com a água contendo células de O. cf. ovata (e.g. Pfannkuchen et al., 2012; Tichadou et al., 2010; Totti et al., 2010). Florações de Ostreopsis também foram associadas a presença e bioacumulação de análogos de palytoxina em tecidos da macrofauna marinha (Amzil et al., 2012; Biré et al., 2015, 2013; Brissard et al., 2014), incluindo mortandades em massa de invertebrados marinhos (Shears e Ross, 2009; Totti et al., 2010). Há indícios de intoxicação humana causada pelo consumo de peixes com palytoxina (clupeotoxismo), que foi encontrada nas vísceras do peixe clupeídeo Herklotsichthys quadrimaculatus, sendo a espécie Ostreopsis siamensis apontada como a fonte provável das toxinas (Onuma et al., 1999). Recentemente, indícios da presença de palytoxinas foram encontrados em amostras de peixes que causaram os surtos da doença de Haff em Salvador, Brasil, indicando um possível envolvimento desta toxina nesses surtos (Cardoso et al., 2022).

No Brasil, florações de *O*. cf. *ovata* foram encontradas em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo no Rio de Janeiro, Praia do Forte na Bahia, Arquipélago de São Pedro e São Paulo (Nascimento et al., 2020) e no Arquipélago de Currais, no Paraná (Tibiriçá et al., 2019). Nesses eventos, não foram observados impactos à saúde humana, porém, foi registrada mortandade em massa de ouriços marinhos (*Echinometra lucunter*) em Arraial do Cabo (Ferreira, 2006; Granéli et al., 2002) e presença de ovatoxinas em moluscos (*Perna*) e em um coral (*Palythoa* sp.) no arquipélago de Currais (Tibiriçá et al., 2019). Em Armação dos Búzios, florações de *O*. cf. *ovata* ocorrem com frequência na praia da Tartaruga e Forno, onde uma densa floração causou a morte do substrato deste dinoflagelado, neste caso a macroalga *Sargassum* sp. em 2013 (Cockell, 2014). Floração de *O*. *lenticularis* foi observada em Fernando de Noronha em 2018 (Borsato et al., 2020).

Diante dos impactos promovidos pelas florações de *O*. cf. *ovata*, muitos estudos nos últimos anos vêm buscando entender quais variáveis bióticas e abióticas são responsáveis ou contribuem para a formação de eventos de floração dessa espécie (Accoroni et al., 2015; Cohu et al., 2013; Mangialajo et al., 2011; Pfannkuchen et al., 2012; Totti et al., 2010) O hidrodinamismo é apontado como um dos principais fatores envolvidos nas florações de *Ostreopsis* cf. *ovata* (Accoroni et al., 2015) com maiores densidades registradas em locais mais protegidos da ação mecânica da água (Meroni et al., 2018; Shears e Ross, 2009; Totti et al., 2010). Totti et al. (2010) e Pfannkuchen et al. (2012) notaram uma diminuição da densidade de *O*. cf. *ovata* em momentos de agitação da água do mar (causada por mudanças no tempo) e restabelecimento da população após o retorno das condições mais calmas no Mar Mediterrâneo.

Assim como o hidrodinamismo, a temperatura da água foi apontada como uma variável importante que pode servir de "gatilho" para as florações de *O*. cf. *ovata*. Os eventos de floração de *O*. cf. *ovata* ocorrem em temperaturas que variam bastante, como foi encontrado no mar Egeu, onde a temperatura variou de 13,9 °C até 29,7 °C (Aligizaki e Nikolaidis, 2006). Accoroni et al. (2015) notaram que enquanto as maiores densidades de *O*. cf. *ovata* ocorreram em temperaturas entre 19 e 24 °C no norte do mar Adriático, no Mediterrâneo, o início das florações ocorreram em temperaturas entre 25 e 29 °C, o que provavelmente está relacionado com a temperatura necessária para a germinação de cistos (Accoroni et al., 2014).

A relação entre as florações de *Ostreopsis* e os nutrientes, por outro lado, ainda não são claras. Alguns estudos não encontraram correlações entre os dois fatores (Cohu et al., 2011; Shears e Ross, 2009), enquanto, foi encontrada correlação positiva entre as concentrações de nutrientes para a espécie *Ostreopsis* sp. no Havaí (Parsons e Preskitt, 2007).

Armação dos Búzios e Arraial do Cabo no Rio de Janeiro são regiões afetadas por florações de *O*. cf. *ovata*, com impactos ecológicos encontrados em ambos os locais (Cockell, 2014; Ferreira, 2006; Granéli et al., 2002; Nascimento et al., 2020). Essas regiões fazem parte do polo turístico Costa do Sol, um dos principais pontos turísticos do Brasil, devido a beleza de suas praias (Fonseca, 2011). Possuem cerca de 30 mil habitantes (IBGE, 2021), que podem triplicar no verão (Motta e Terra, 2011). Entretanto, esses municípios possuem alguns dos piores indicadores de coleta de lixo e saneamento básico no estado do Rio de Janeiro (Fonseca, 2011), portanto, sua área costeira está suscetível aos impactos de tais ações antrópicas, que podem estimular a formação de florações de *O*. cf. *ovata*. As florações de *O*. cf. *ovata* podem impactar negativamente as atividades socioeconômicas da região, uma vez que podem tornar as praias menos atrativas e até mesmo impróprias para banho, se as densidades forem altas (Funari et al., 2015; Tichadou et al., 2010). Além disso, há o risco de contaminação de peixes e moluscos com as toxinas produzidas por *O*. cf. *ovata*.

Neste trabalho pretende-se, realizar um levantamento dos registros de florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios entre 1998-2021, incluindo os efeitos sobre ouriços-do-mar das espécies *Echinometra lucunter* e *Lytechinus variegatus*. Além disso, o estudo visou caracterizar as densidades de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios no verão de 2020 e avaliar pela primeira vez, o acúmulo de ovatoxinas em ouriços-do-mar durante um evento de floração.

2. Objetivos

2.1. Geral

Caracterizar os eventos de florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios entre 1998-2021, e avaliar pela primeira vez, o acúmulo de ovatoxinas em ouriços-do-mar durante floração em Arraial do Cabo.

2.2. Específicos

- Determinar as densidades das espécies de dinoflagelados epi-bentônicos tóxicos associados à macroalgas de Arraial do Cabo e Armação dos Búzios em 2020;
- Integrar os registros de florações de O. cf. ovata em Arraial do Cabo e as condições meteorológicas que antecederam cada evento, buscando possíveis padrões entre os eventos;

- Investigar a relação entre a temperatura da água do mar e as florações de O. cf. ovata em Arraial do Cabo em 2020;
- Avaliar o acúmulo de ovatoxinas em espécies de ouriços-do-mar em Arraial do Cabo durante um evento de floração no verão de 2020.
- 3. Material e métodos
- 3.1. Amostragem de dinoflagelados epi-bentônicos em 2019/2020

Macroalgas dos gêneros *Dictyota*, *Sargassum*, *Laurencia*, *Amphiroa*, *Hypnea* e *Spyridia* (Tab. 1) foram coletadas nas praias do Forno, Prainha e Anjos em Arraial do Cabo-AC, e nas praias do Forno e Tartaruga em Armação dos Búzios-AB (Fig. 1, Tab.1) para a quantificação da densidade das espécies de dinoflagelados epi-bentônicos.



Figura 1: Sítios de amostragem em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios, RJ. 1. Anjos-AC, 2. Forno-AC, 3. Prainha-AC, 4. Tartaruga-AB, 5. Forno-AB.

As macroalgas foram coletadas a cerca de 1 m de profundidade junto com a água do mar circundante, em mergulho livre utilizando sacos plásticos com fecho zíper para a

separação das microalgas epífitas. Na praia do Forno-AC, macroalgas foram coletadas em dois pontos, um no costão próximo da praia e o outro no costão a 50 m da areia, em uma área de remanso.

Os dinoflagelados foram dissociados de seus substratos através da agitação das macroalgas por 2 minutos, e a solução formada foi separada e preservada com lugol neutro a 1% ou formol para identificação e quantificação dos gêneros/espécies presentes. Nos dias 22 e 24 de janeiro de 2020, foi observado um biofilme de microalgas sobre as macroalgas, que foi coletado usando uma seringa de 50 ml diretamente do substrato, para identificação e quantificação das microalgas epífitas.

Tabela 1: Datas das amostragens e número de macroalgas coletadas (N) em cada um dos locais de amostragem.

Localidades	Data de coleta	Ν	
Forno, Arraial do Cabo, RJ*	28/12/2019	8	
(22°58'4,70"S, 42°0'56,20"W)	18/02/2020	7	
	24/01/2020	4	
Prainha, Arraial do Cabo, RJ	18/02/2020	8	
(22°57'23,10"S, 42°1'35,90"W)	23/08/2020	1	
	27/08/2020	6	
	22/01/2020	**	
Anjos, Arraial do Cabo, RJ	24/01/2020	8	
(22°58'45,10"S, 42°1'10,50"W)	18/02/2020	8	
	03/06/2020	3	
Forno, Armação dos Búzios, RJ	23/01/2020	4	
(22°45'18" S, 41°52'34" W)	17/02/2020	8	
Tartaruga, Armação dos Búzios, RJ	23/01/2020	5	
(22°45'18" S, 41°54'7" W)	17/02/2020	4	

*Não houve coleta em Forno (AC) no mês de janeiro/2020 devido às más condições climáticas no momento da coleta.

**Em 22/01/20 houve coleta apenas do biofilme de epífitos, sobre as macroalgas.

3.2. Identificação e quantificação dos dinoflagelados epi-bentônicos

As amostras contendo microalgas epífitas foram filtradas em malhas de 125 e 250 µm para retirar detritos e areia. Os dinoflagelados epi-bentônicos foram identificados e quantificados usando microscópio ótico invertido em câmaras de sedimentação ou câmara de Sedgewick rafter. As macroalgas foram pesadas em balança analítica, e a densidade das microalgas foi determinada por grama de peso úmido de macroalga (gPU⁻¹ macroalga). As

amostras que apresentaram um número de células menor que 25 por 100 ml (volume sedimentado), foram consideradas como densidades não detectáveis.

As espécies presentes no biofilme sobre as macroalgas coletadas em janeiro de 2020 foram identificadas ao menor nível taxonômico possível, e quantificadas para determinação de sua densidade relativa.

3.3. Registros de florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo e parâmetros meteorológicos associados a esses eventos

A primeira floração de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo (AC), no Rio de Janeiro foi registrada em 1998 (Granéli et al., 2002, Ferreira, 2006) e desde então, o prof. Carlos Ferreira (UFF), tem realizado registros fotográficos do filme de *O*. cf. *ovata* sobre macroalgas em AC. Além disso, estudos da dinâmica das espécies de dinoflagelados epibentônicos em AC e Armação dos Búzios (AB) foram realizados em 2006-2007 (Alencar, 2010; Monteiro, 2007; Souza, 2010) e 2012/2013 (Cockell, 2014). A partir desses métodos, foram considerados como eventos de floração de *O*. cf. *ovata*: a presença de biofilme sobre o substrato e/ou densidades maiores que 1,0 x 10^4 gPU⁻¹ de macroalga.

Esses registros de eventos de floração foram de "oportunidade" e certamente vários outros eventos ocorreram neste período e não foram registrados. Os eventos de floração observados em 2020 durante este estudo e outros dois eventos registrados em 2021 foram incluídos no levantamento das florações na região. Durante todos os eventos, os ouriçosdo-mar Lytechinus variegatus e Echinometra lucunter que apresentavam danos morfológicos como perda de espinhos e necrose foram fotografados. A fim de melhor conhecer as condições meteorológicas que precedem as florações de O. cf. ovata, e que podem favorecer tais eventos, os dados de temperatura do ar (°C), precipitação (mm), radiação solar global (KJ/m²), pressão atmosférica (mB) e velocidade do vento (m/s) da estação meteorológica de AC (22°59'00.0"S 42°01'00.0"W), nas 4 semanas anteriores a cada registro de floração foram obtidos na página web do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Esses dados referem-se ao período entre setembro de 2006 e novembro de 2021 e foram medidos a cada hora. A média diária de cada parâmetro selecionado foi calculada e posteriormente os dados diários das 4 semanas antes de cada evento foram plotados em um gráfico. Para alguns eventos os dados meteorológicos não estavam disponíveis.

Dados de temperatura da água, disponíveis entre dezembro de 2019 a setembro de 2020 foram medidos com sensores subaquáticos (Data logger UA-002-64, Onset) instalados *in situ* próximos à superfície (3 metros de profundidade) e ao fundo (8 metros de profundidade) no molhe do porto da praia dos Anjos em AC. Esses dados foram utilizados para comparar com as densidades de *O*. cf. *ovata* nas florações de 2020 e como indicativo da ocorrência de ressurgência no período que antecedeu as florações, assumindo que valores de temperatura \leq 20 °C podem ser usados como "proxy" para a Água Central do Atlântico Sul (ACAS) (Castro e Miranda, 1998; Coelho-Souza et al., 2017). A diferença entre os valores de temperatura na superfície e no fundo também foi usada para avaliar a presença de água de mistura com a ACAS. Os sensores mediram a temperatura da água do mar a cada 30 minutos.

3.4. Análise de ovatoxinas em tecidos de ouriços-do-mar

Espécimes de ouriços-do-mar (*Echinometra lucunter* e *Lytechinus variegatus*) foram coletados nas praias dos Anjos, Forno e Prainha em Arraial do Cabo em janeiro e fevereiro de 2020 para análise de ovatoxinas. Dez indivíduos foram coletados em cada sítio de amostragem em cada data. Os ouriços foram mantidos congelados em freezer a -20 °C até julho de 2021, quando foi realizada a separação dos tecidos: gônadas e tubo digestivo, para análise separadamente. Os tecidos foram separados prontamente após a retirada do freezer, a fim de evitar a contaminação cruzada durante o descongelamento. Após a separação, cada amostra de gônada e tubo digestivo foi pesada em balança analítica, separada em um tubo de centrifugação e congelada novamente a -20 °C. Os tecidos foram enviados em gelo seco, para análise pelo Dr. Luiz Mafra Júnior da Universidade Federal do Paraná e Dr. Mathias Schramm do Instituto Federal de Santa Catarina.

As ovatoxinas (OVTXs) foram extraídas dos ouriços usando uma sonda de ultrassom (130 W; Cole Parmer CPX130; EUA) por 5 min (pulsos de 3 s por 1 s de intervalo) a 90% da potência máxima (130 W), após a adição de metanol 90% (grau HPLC) em uma proporção de 9 mL de metanol 100% para cada 1 g de tecido. O tubo contendo os tecidos e a solução de metanol permaneceu imerso em gelo durante o procedimento. O extrato foi centrifugado a 3000 x g por 10 min e o sobrenadante foi reservado. Este processo foi repetido mais uma vez e o líquido sobrenadante proveniente de cada etapa foi recuperado e combinado. O extrato foi filtrado em filtro de seringa PTFE 0,22 μ m, 0,13 mm diâmetro.

Posteriormente o extrato foi concentrado por evaporação em sistema de evaporação à vácuo (IF-SC) a 50 °C até secar, e foi ressuspenso em 0,6-0,8 mL de metanol, concentrando os extratos entre 10 e 30 x.

Ao final, cada amostra foi filtrada com filtro de seringa em nylon (13 mm diâmetro, 0,22 µm de porosidade) para remoção de detritos, coletados em frascos tipo vial e mantidos congelados até o momento da análise das toxinas. A identificação das toxinas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção por espectrometria de massas (LR-HPLC-MS/MS). As análises foram conduzidas em um sistema de MicroLC 200 Plus, Eksigent Technologies[®]) composto de um Sistema de autoamostragem refrigerado PAL com 3 gavetas, bomba binária com microtubos de 50 µm i.d. para fluxos entre 20 e 200 µL min⁻¹ e compartimento para controle térmico da coluna, acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo (AB Sciex[®] Q-Trap 4500). Extratos simples e concentrados (10-30x) foram analisados, além de diluições do padrão analítico de palytoxina (PLTX), intercalados com amostras de água deionizada e metanol 90%, para prevenir entupimento da coluna. As separações cromatográficas foram realizadas em uma coluna C-18 (Poroshell 120, 100×2.1 mm I.D., 2.7 µm; Agilent HP, USA), usando soluções com diferentes concentrações de acetonitrila (grau HPLC) e água deionizada como as fases móveis num sistema binário com eluição por gradiente. O método consistiu no monitoramento de múltiplas transições para PLTX, 42-OH-PLTX e OVTXs (OVTX-a a OVTX-d/e), adaptado de Brissard et al. (2015) e foi otimizado para amostras de ouriços. As imagens dos cromatogramas foram geradas pelo software Analyst.

A quantificação não foi possível porque as transições detectáveis no padrão foram diferentes daquelas nas amostras, limitando a análise a resultados qualitativos (presença dos compostos) e semi-quantitativos (relação entre área dos picos nos cromatogramas, levando-se em conta o fator de concentração). Até o momento foram analisados somente os tubos digestivos dos ouriços-do-mar coletados em 24 de janeiro de 2020 na praia dos Anjos, AC. Estas amostras foram priorizadas, pois nessa época ocorreu um evento de floração de *O*. cf. *ovata*, portanto são amostras mais propensas ao acúmulo de OVTXs.

4. Resultados

4.1. Densidades (2019-2020) de dinoflagelados epi-bentônicos em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios A densidade de dinoflagelados epi-bentônicos foi determinada em 59 amostras de macroalgas das espécies *Sargassum maximilianii* (Schrader) Martius (Eschweiler et al., 1829), *Spyridia hypnoides* (Bory) Papenfuss (Papenfuss, 1968), *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützing (Kützing, 1847), *Amphiroa beauvoisii* J. V. Lamouroux (Lamouroux, 1816), *Laurencia* cf. *dendroidea* J. Agardh (Agardh, 1852), *Amphiroa fragilissima* (Linnaeus) J. V. Lamouroux (Lamouroux, 1816) e *Dictyota menstrualis* (Hoyt) Schnetter, Hörnig e Weber-Peukert (Schnetter et al., 1987). Quatro eventos de floração de *O*. cf. *ovata* foram observados em 2020, um na praia do Forno-AB, dois na praia dos Anjos e um na Prainha em Arraial do Cabo (Tab. 2, Fig. 2).

Na praia do Forno-AC, a densidade média de *O*. cf. *ovata* foi mais alta em dezembro de 2019 no ponto próximo a praia, com média de 5,1 x 10³ céls.gPU⁻¹ *S*. *maximilianii*. Já no ponto de amostragem localizado a 50 metros da praia, as densidades médias foram de 4,6 x 10² céls.gPU⁻¹ *S. maximilianii* e 1,2 x 10³ céls.gPU⁻¹ *S. hypnoides* (Tab. 2, Fig. 2A). No mês de fevereiro, as densidades médias foram de 1,1 x 10³ céls.gPU⁻¹ *S. maximilianii* próximo a praia, enquanto que no ponto mais distante foram de 34 céls.gPU⁻¹ *S. maximilianii* (Tab. 2, Fig. 2A).

Dois eventos de floração de *O*. cf. *ovata* foram encontrados na praia dos Anjos-AC, em janeiro e em junho. Em janeiro, a densidade média de *O*. cf. *ovata* foi maior na macroalga *H. spinella* com 1,6 x 10^4 céls.gPU⁻¹, enquanto *A. beauvoisii* apresentou 4,3 x 10^3 céls.gPU⁻¹ e *S. maximilianii* 619 céls.gPU⁻¹ (Tab. 2, Fig. 2B). No mês de fevereiro (3 semanas após o evento de janeiro), por outro lado, as densidades não foram detectáveis em macroalgas dos gêneros *Sargassum* e *Hypnea*. A maior densidade em todo o estudo foi encontrada em 3 de junho na praia dos Anjos, 3,1 x 10^5 céls.gPU⁻¹ *L*. cf. *dendroidea*, e densidade média de 1,1 x 10^5 céls.gPU⁻¹ *S. maximilianii* (Tab. 2, Fig. 2B). Essa floração foi inicialmente observada no dia 10 de maio (registro fotográfico e comunicação pessoal de C. Ferreira, evento A4, Tab. 3), mas quase 1 mês depois o evento ainda estava ocorrendo com densidades elevadas. Tabela 2: Densidade média ($n\geq 2$) ou absoluta (n=1) de dinoflagelados epi-bentônicos (céls.gPU⁻¹) em cada sítio de amostragem e data de coleta por espécie de macroalga, incluindo desvio padrão e valores mínimos e máximos. O símbolo (-) indica ausência do gênero e o símbolo (*) indica densidades consideradas como floração. Amostras de janeiro e fevereiro da Prainha, fevereiro da praia dos Anjos e janeiro da praia do Forno-AB apresentaram densidades não detectáveis.

Local	Data	Macroalgas	Ostreopsis cf. ovata	Prorocentrum	Amphidinium	Coolia	Gambierdiscus	Total		
		Saraassum maximilianii (porto n-2)	5.086 ± 3.222	13 ± 18	77 ± 109	28 ± 3	()	5.204 ± 3.347		
		Sargassum maximutanti (perto, 11–2)	(2.807-7.364)	(0-26)	(0-154)	(26-30)	(-)	(240-7.570)		
	28/11/10	Saraassum maximilianii (longe n-3)	458 ± 324	13 ± 9	2 ± 2	7 ± 2	()	480 ± 329		
	20/11/17	Surgassum maximutanti (longe, 11–3)	(218-826)	(3-18)	(0-4)	(5-9)	(-)	(240-855)		
Forno-AC		Spyridia hypnoides (longe n=3)	1.174 ± 1.431	15 ± 13	(-)	10 ± 8	(-)	1.184 ± 1.424		
FUID-AC		Spyruu nyphotues (longe n=5)	(264-2.824)	(5-29)	(-)	(0-14)		(269-2.824)		
		Sargassum maximilianii (perto_n-3)	1.103 ± 400	45 ± 16	(-)	8 ± 7	(-)	1.156 ± 421		
	18/02/20	Surgussian maximutanii (perto, 11–5)	(833-1.563)	(33-63)	()	(0-14)		(875-1.640)		
	10/02/20	Saraassum maximilianii (longe n-4)	34 ± 22	44 ± 37	2 ± 3	13 ± 20	1 ± 1	421 ± 66		
		Surgussum maximitanti (longe, n=+)	(9-60)	(5-87)	(0-6)	(1-42)	(0-1)	(48-175)		
		Sargassum maximilianii (n=2)	619 ± 826	(-)	13 ± 19	(-)	(-)	632 ± 845		
		~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	(34-1.203)		(0-26)		()	(34-1.229)		
	24/01/20	Hypnea spinella (n=2)	$15.536^* \pm 18.769$	$7 \pm 10$	(-)	(-)	(-)	15.543* ± 18.759*		
		Hypned spinetia (n=2)	(2264-28.807*)	(0-14)	()			(2.278 - 28.807*)		
Anjos-AC	03/06/20	Amphiroa heauvoisii (n=3)	$4.335 \pm 2.074$	$11 \pm 10$	(-)	(-)	(-)	$4.346 \pm 2.083$		
			(3.811-6.621)	(0-20)				(3.823-6.641)		
		Sargassum maximilianii (n=2)	$107.910^* \pm 110.506$	$45 \pm 9$	(-)	(-)	(-)	107.957* ± 110.497		
			(29.771*-186.050*)	(39-52)				(29.824*-186.091*)		
		Laurencia cf. dendroidea (n=1)	312.085*	(-)	(-)	(-)	168	312.088*		
	23/08/20	Amphiroa fragilissima (n=1)	133.951*	(-)	(-)	(-)	56	134.006*		
	27/08/20	Amphiroa fragilissima (n=3) 27/08/20 Laurencia cf. dendroidea (n=3)	$41.912* \pm 11.118$	(-)	(-)	(-) (-)	$7 \pm 11$	41.918* ± 11.126		
Prainha-AC			(29.453*-50.824*)				(0-20)	(29.453*-50.843*)		
			$162.136^* \pm 52.228$	.228	(-) (-)	(-)	$56 \pm 56$	$19 \pm 33$	162.211* ± 52.214	
		. ,	(129.483*-222.372*)	~ ~ ~		(0-113)	(0-58)	(129.483*-222.427*)		
	17/02/20	Dictyota menstrualis (n=2)	$33.001* \pm 36.169$	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	$33.001^* \pm 36.169$
Earna AD			(7.425-58.576*)	14 . 25		<b>57</b> . 00		(7.425-58.576*)		
<b>Г</b> ОГПО-АВ		Amphiroa spp. (n=3)	$5/.184^{\circ} \pm 40.781$	$14 \pm 25$	(-)	$57 \pm 99$	(-)	$37.233^{*} \pm 40.904$		
		$\mathbf{S}_{ano}$	$(13.041^{\circ}-84.274^{\circ})$	(0-45)	41	(0-1/1)	()	$(15.041^{\circ}-84.487^{\circ})$		
		Sargassum maximitianti (II=1)	$\frac{54.412^{+}}{14 \pm 20}$	41 54 ± 42	41	(-)	(-)	<u> </u>		
	23/01/20	Sargassum maximilianii (n=2)	$(0_{-}28)$	(21-81)	(-)	5 ± 4 (0-5)	$12 \pm 2$ (10-14)	68-91)		
Tartaruga			8 + 12	(21-01) 102 + 131	0 + 1	(0-3) 2 + 2	(10-14)	11/ + 1//		
1	17/02/20	Sargassum maximilianii (n=4)	(1-25)	$(9_2 292)$	(0-1)	$\frac{2}{10}$	$\frac{2}{10}$	(11-323)		
				(1-23)	()-2)2)	(0-1)	(0-3)	(0-3)	(11-525)	



Figura 2: Densidade absoluta (n=1) ou média com desvio padrão (n $\geq$ 2) de *O*. cf. *ovata* (A-D) e dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus* e *Coolia* (E) em céls.gPU⁻¹ macroalga. A- Forno-AC, B- Anjos, C- Prainha, D- Forno-AB, E- Tartaruga. ND = densidade não detectável.

A análise do biofilme sobre as macroalgas calcárias vermelhas, coletado nos dias 22 e 24/01/20 na praia dos Anjos, mostrou grande diferença na composição de espécies entre os dois dias (Fig. 3). No dia 22, o biofilme era composto por uma diversidade de microalgas e cianobactérias, com maior representação (37% da densidade total) de

cianobactérias filamentosas finas (largura  $\leq 3 \ \mu$ m) e diatomáceas penadas pequenas (comprimento  $\leq 50 \ \mu$ m) (32% da densidade total), enquanto *O*. cf. *ovata* representava 19% da densidade de células encontradas nesta data (Fig. 3A). Os demais grupos representaram 5% (diatomácea *Licmophora*), 4% (diatomácea penada grande com comprimento  $\geq 50$ ), 2% (cianobactéria com largura  $\geq 3 \ \mu$ m) e 1% (diatomácea cêntrica), enquanto *Amphidinium* representou menos de 1%.

No dia 24, a composição específica havia mudado e o biofilme já não era evidente, mas *Ostreopsis* cf. *ovata* se tornou a espécie dominante, representando 86% da densidade encontrada, seguido pelas diatomáceas penadas pequenas que representaram 11% da densidade total (Fig. 3B). As diatomáceas penadas com comprimento  $\geq$  50 µm e as cianobactérias largas e finas representaram, cada uma, 1% da densidade total. Células de *Licmophora* e de *Amphidinium* não foram observadas, e as diatomáceas cêntricas tiveram representatividade menor que 1%.



Figura 3: Contribuição de cada unidade taxonômica (%) para a densidade total nos biofilmes sobre macroalgas calcárias coletados dos dias 22 (A) e 24/01 (B) na praia dos Anjos em Arraial do Cabo.

Na Prainha-AC, as densidades de dinoflagelados bentônicos foram não detectáveis nos meses de janeiro e fevereiro, quando o mar estava bastante agitado no momento da coleta. Em contraste, no mês de agosto, densidades elevadas e presença de biofilme de *O*. cf. *ovata* foram observados nesta praia, atingindo 1,3 x  $10^5$  e 4,2 x  $10^4$  céls.gPU⁻¹ *A*. *fragilissima* nos dias 23 e 27 de agosto de 2020, respectivamente, e 1,6 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ *L*. cf. *dendroidea* em 27/08 (Tab. 2, Fig. 2C).

Na praia do Forno em Armação dos Búzios, a densidade média de *O*. cf. *ovata* no mês de fevereiro foi de 3,3 x  $10^4$  céls.gPU⁻¹ *D*. *menstrualis* e 3,4 x  $10^4$  céls.gPU⁻¹ *S*. *maximilianii*. Em *Amphiroa* spp., a densidade média foi de 3,7 x  $10^4$  céls.gPU⁻¹ (Tab. 2, Fig. 2D). No mês de janeiro, 3 semanas antes das elevadas densidades observadas em fevereiro, macroalgas do gênero *Sargassum* apresentaram densidades não detectáveis.

Na praia da Tartaruga, as densidades médias de dinoflagelados bentônicos não ultrapassaram 150 céls.gPU⁻¹. *Ostreopsis* cf. *ovata* apresentou baixas densidades em janeiro e fevereiro de 2020, não ultrapassando 20 céls.gPU⁻¹ S. maximilianii, e as maiores densidades foram do gênero *Prorocentrum*, com média de 54 céls.gPU⁻¹ S. *maximilianii* no mês de janeiro e 102 céls.gPU⁻¹ S. maximilianii no mês de fevereiro (Tab. 2, Fig. 2E).

4.2. Eventos de florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo entre 1998-2021 e parâmetros meteorológicos associados a esses eventos

Entre 1998-2014 foram observados 14 registros da presença de biofilme (florações) de *Ostreopsis* cf. *ovata* em Arraial do Cabo, nos costões da Ilha de Cabo Frio (Pedra Vermelha) e Ilha dos Porcos e nas praias do Forno, Anjos e Prainha (Tab. 3, Fig. 4A-F).

Em 2020, três eventos de floração foram registrados, nas praias dos Anjos e Prainha, pela coleta de amostras e quantificação da densidade de células sobre macroalgas (Fig. 2), além do registro fotográfico (Tab. 2 e 3, Fig. 4G-I). No ano de 2021, mais duas florações de *O*. cf. *ovata* foram observadas (Tab. 3, Fig. 4J-K). Durante esses eventos, foram encontrados ouriços-do-mar das espécies *Echinometra lucunter* e *Lytechinus variegatus* com perda de espinhos e/ou cobertos com o filme de *O*. cf. *ovata* (Tab. 3, Fig. 5).



Figura 4: Registros fotográficos de biofilmes de *O*. cf. *ovata* em diferentes eventos de floração em Arraial do Cabo entre 1998-2021. A. Ilha de Cabo Frio em dez/98, B. Forno em dez/06, C. Anjos em mar/11, D. Forno em mai/12, E. Forno em dez/12, F. Ilha dos Porcos em mai/14, G. Anjos em jan/20, H. Anjos em mai/20, I. Prainha em ago/20, J. Anjos em out/21 e K. Forno em nov/21. Créditos: Carlos E. L. Ferreira.



Figura 5: Ouriços marinhos impactados durante diferentes florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo. A. *E. lucunter* com perda de espinhos e necrose em dez/98 na Ilha de Cabo Frio, B. Biofilme de *O*. cf. *ovata* sobre *E. lucunter* na praia do Forno em dez/06, C. *E. lucunter* com perda de espinhos em set/08 na praia dos Anjos, D. Biofilme sobre *E. lucunter* em mar/11 na praia dos Anjos, E. Biofilme sobre *E. lucunter* em mai/12 na praia do Forno, F. *L. variegatus* e G. *E. lucunter* com perda de espinhos em mai/12 na praia do Forno, H. Biofilme sobre *E. lucunter* em mai/12 na praia do Forno, H. Biofilme sobre *E. lucunter* em mai/14 na Ilha dos Porcos, I. Biofilme sobre *E. lucunter* em jun/20 na praia dos Anjos e J. Biofilme sobre *L. variegatus* em ago/20 na Prainha. Créditos: Carlos E. L. Ferreira.

Tabela 3: Histórico dos registros de florações de *Ostreopsis* cf. *ovata* entre 1998 e 2021 na cidade de Arraial do Cabo, indicação de danos visíveis em ouriços-do-mar e código de cada evento. NV = não visíveis, PE = perda de espinhos, N = necrose, M =mortandade, B= biofilme sobre ouriços.

Florações em Arraial do Cabo					
Data	Local	Impacto sobre ouriços	Código		
27/nov/98	Pedra Vermelha, Ilha de Cabo Frio	PE, N, M	CB1		
dez/01	Pedra Vermelha, Ilha de Cabo Frio	PE, N, M	CB2		
06/dez/06	Forno	PE	F1		
26/dez/06	Forno	В	F2		
27/dez/06	Prainha	В	P1		
24/abr/07	Forno	NV	F3		
28/set/08	Anjos	PE	A1		
28/nov/10	Prainha	В	P2		
dez/10	Prainha	NV	P3		
22/jan/11	Prainha	NV	P4		
04/mar/11	Anjos	В	A2		
14/mai/12	Forno	В	F4		
26/dez/12	Forno	PE	F5		
24/mai/14	Ilha dos Porcos	В	IP1		
22/jan/20	Anjos	NV	A3		
10/mai/20	Anjos	PE	A4		
23/ago/20	Prainha	В	P5		
06/out/21	Anjos	NV	A5		
10/nov/21	Forno	NV	F6		

Na cidade de Armação dos Búzios, foram registrados 5 eventos de florações de *O*. cf. *ovata*, na praia da Tartaruga em junho de 2006, janeiro e julho de 2007 e na praia do Forno em dezembro de 2012 e fevereiro de 2020 (Alencar, 2010; Monteiro, 2007; Cockell, 2014). Ouriços-do-mar não foram observados nessas praias.

Os dados meteorológicos nas quatro semanas que antecederam as florações avaliadas apresentaram grande variação. A temperatura média do ar variou entre 17,1 e 27,9 °C nesses períodos, variando entre 18,9 °C e 27,1 °C na semana anterior ao evento e com valores entre 19,7 e 27,1 °C na data em que o evento foi registrado (Fig. 6A). A radiação global variou entre 137,5 KJ/m² e 2287,0 KJ/m² ao longo das 4 semanas, 137,5 KJ/m² e 2156,1 KJ/m² na quarta semana, e no dia do registro do evento a variação foi de 478,6 a 2132,7 KJ/m² (Fig. 6B). A velocidade do vento variou diariamente entre 1,2-10,3 m/s, que na escala de 0-12 de Beaufort equivalem a níveis entre aragem (nível 1), relacionado a pequena movimentação na superfície da água, e brisa forte (5),

equivalente a ondas de até 2,5 metros (Fig. 6C). Levando em consideração a última semana e o dia em que o evento foi observado, essa variação foi menor, com valores entre 1,3-7,6 m/s e 1,6-6,7 m/s, respectivamente, que equivalem aos níveis 1 a 4 (brisa moderada), este último caracterizado por ondas de até 1 m. Já a pressão atmosférica variou entre 1004,6 e 1027,9 mB ao longo das 4 semanas, entre 1004,6-1023,8 mB na quarta semana e 1009,4 a 1023,8 mB no dia em que o evento foi registrado. Foi observada tendência de aumento na pressão atmosférica nos 5 dias anteriores ao registro de dez do total de 16 eventos (Fig. 6D). Por último a precipitação encontrada foi sempre baixa, variando entre 0 e 3,2 mm ao longo das 4 semanas e entre 0 e 1,8 mm na quarta semana, sendo ainda mais baixa no dia em que o evento foi visto, variando entre 0-0,3 mm (Fig. 6E).

A temperatura da água do mar nas 4 semanas antes das florações que ocorreram em 2020 variou entre 20,9 °C e 25,4 °C na superfície (3 metros de profundidade) e 17,6 °C e 24,9 °C no fundo (8 metros de profundidade) (Fig. 6F). Na última semana, a variação foi de 21,5 °C e 24,8 °C na superfície, e 19,3 °C e 23,9 °C no fundo.

No mês de janeiro (evento A3), a diferença entre a temperatura na superfície e no fundo, que pode ser usada como um indicativo da presença da ACAS, variou entre 0,8 °C e 4,9 °C. Diferenças de temperatura maiores que 1,5 °C foram observadas com frequência, e temperaturas inferiores a 20 °C foram observadas apenas nessa floração, em 9 dias dos 28 analisados, com valor mínimo de 17,6 °C.

Nos eventos A4 e P5, a diferença de temperatura entre a superfície e o fundo foi menor, variando entre 0 °C e 2,1 °C e entre 0,1 °C e 1,9 °C, respectivamente. Diferenças maiores que 1,2 °C foram raras, não passando de 3 dias, e coincidiram com as menores temperaturas encontradas nessas florações, por volta de 20 °C.



Figura 6: Médias diárias dos (A-E) dados meteorológicos e (F) de temperatura da água do mar nas quatro semanas que antecederam cada evento de floração. A. Temperatura do ar (°C), B. radiação global (KJ/m²), C. velocidade do vento (m/s), D. pressão atmosférica (mB), E. precipitação (mm), F. temperatura da água no molhe do porto da praia dos Anjos (s=superfície, f=fundo). Dia 28 indica a data na qual o evento foi observado. Códigos dos eventos estão apresentados na tabela 3. Para as florações CB1, CB2 e P3 não há dados meteorológicos disponíveis nas 4 semanas anteriores ao evento.

# 4.3. Análise do acúmulo de ovatoxinas em tecidos de ouriços-do-mar durante evento de floração em Arraial do Cabo

A análise do tubo digestivo de dez ouriços-do-mar coletados na praia dos Anjos em Arraial do Cabo em 24 de janeiro de 2020 por HPLC-MS/MS, indicou a presença de compostos "PLTX-like" (palytoxina e análogos) no tubo digestivo dos 8 indivíduos da espécie *Echinometra lucunter*. Em 2 indivíduos da espécie *Lytechinus variegatus*  coletados na mesma data e local, essas toxinas não foram detectadas. As transições encontradas foram 882,500>377200 Da e 881,820>377200 Da, referentes aos compostos OVTX d/e e PLTX, respectivamente (Tab. 4). Contudo, ainda que o detector tenha uma boa precisão na determinação das massas, é possível que a detecção das duas transições seja referente a um único composto, já que a diferença de m/z entre esses íons de tripla carga é pequena (0,7 Da). Alternativamente, o sinal do primeiro íon pode ser referente, na verdade, a um íon característico da PLTX, com m/z = 882,161 (diferença de 0,35 Da). Neste último caso, talvez o mais provável, as análises indicariam a presença somente de PLTX.

Tabela 4: Resultados qualitativos da análise de HPLC-MS/MS em relação a presença de compostos "PLTX-like" em ouriços-do-mar coletados na praia dos Anjos, em janeiro de 2020 a partir da razão m/z entre 882,500>377200 Da para OVTX-d/e e 881,820>377200 Da para PLTX.

Indivíduo	Espécie	OVTX-d/e e PLTX
1	E. lucunter	Х
2	E. lucunter	Х
3	L. variegatus	
4	L. variegatus	
5	E. lucunter	Х
6	E. lucunter	Х
7	E. lucunter	Х
8	E. lucunter	Х
9	E. lucunter	Х
10	E. lucunter	х

A Fig. 7 apresenta um cromatograma do padrão de palytoxina enquanto a Fig. 8 um cromatograma do tubo digestivo do indivíduo 10, da espécie *Echinometra lucunter*, mostrando que os íons encontrados no ouriço têm o mesmo tempo de retenção que os íons referentes as transições de OVTX-d e PLTX.



Figura 7: Análise por cromatografia líquida e espectrometria de massas com monitoramento de íons múltiplos do padrão de PLTX na concentração de 148 ng/ml.



Figura 8: Análise por cromatografia líquida e espectrometria de massas com monitoramento de íons múltiplos de PLTX e análogos em tubo digestivo do ouriço-domar *Echinometra lucunter* (indivíduo 10) coletado em 24 de janeiro de 2020 na praia dos Anjos, AC.

Não foi possível confirmar a identificação das moléculas, pois foi observada uma diferença nas transições detectáveis do padrão de palytoxina e as moléculas presentes nos organismos analisados. A análise semi-quantitativa, baseada na comparação da área dos picos nos cromatogramas de diferentes indivíduos de *E. lucunter* indicou quais deles apresentaram maior abundância relativa dessas moléculas (Tab. 5). A análise indicou variação na concentração dessas moléculas em diferentes indivíduos de *E. lucunter*.

Tabela 5: Resultados semi-quantitativos da análise de HPLC-MS/MS dos ouriços-domar coletados no mês de janeiro de 2020 na Praia dos Anjos. Abundância relativa obtida a partir da relação entre a área dos picos do cromatograma corrigida pelo fator de concentração, dividida pela área corrigida da transição mais intensa (882,5>377200) na amostra mais concentrada (indivíduo 10). Indivíduos 3 e 4 se referem a espécie *L*. variegatus e as demais amostras pertencem a espécie *E. lucunter*.

Individuo	Concentração	Área do pico (counts)		Abundância relativa	
		882,500>377200 (OVTX-d/e)	881,820>377200 (PLTX)	882,500>377200 (OVTX-d/e)	881,820>377200 (PLTX)
1	10	6490	1700	0.44	0.11
2	30	7960	1940	0.18	0.04
3	30	N/A	N/A	N/A	N/A
4	25	N/A	N/A	N/A	N/A
5	25	4260	1260	0.12	0.03
6	20	7360	2520	0.25	0.09
7	30	587	2410	0.01	0.05
8	15	18176	5220	0.82	0.24
9	20	23000	5530	0.78	0.19
10	10	14800	5420	1.00	0.37

# 5. Discussão

Os resultados do presente trabalho, mostram que as florações de *O*. cf. *ovata* são fenômenos frequentes em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios. Um total de 19 eventos em Arraial do Cabo e 5 eventos em Armação dos Búzios foram registrados entre 1998-2021, sendo que outros eventos muito provavelmente ocorreram neste período. Com base nas densidades celulares, em Arraial do Cabo, três eventos de floração de *O*. cf. *ovata* foram encontrados em 2020, nos meses de janeiro, maio/junho e agosto, sendo que em junho foi observada a maior densidade de dinoflagelados bentônicos no ano, chegando a 3,1 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ *Laurencia* cf. *dendroidea* na praia dos Anjos. Densidades de até 4,6 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ *Sargassum* spp., Cockell, 2014), na praia da Tartaruga em 2006 (2,3 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ *Laurencia* sp., Monteiro, 2007) e no

Arquipélago de Currais em 2017 (5,6 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ macroalga, Tibiriçá et al., 2019) (Tab. 6). Essas densidades se equiparam a de alguns eventos encontrados no Mar Mediterrâneo, como a densidade de 3,1 x  $10^5$  céls *O*. cf. *ovata*.gPU⁻¹ *Cystoseira crinita* na Croácia, onde banhistas reportaram sintomas respiratórios (Pfannkuchen et al., 2012). Várias florações com densidades ainda maiores, superiores a  $10^6$  céls.gPU⁻¹ têm sido registradas no Mar Mediterrâneo (e.g. Amzil et al., 2012; Cohu et al., 2013, 2011; Ninčević Gladan et al., 2019; Totti et al., 2010). Já em Armação dos Búzios, em 2020, elevadas densidades de *O*. cf. *ovata*, de até 8,4 x  $10^4$  céls.gPU⁻¹ *Amphiroa* spp. foram encontradas apenas no mês de fevereiro na praia do Forno-AB. No mês de janeiro as densidades da espécie foram não detectáveis, mostrando uma alta capacidade de reprodução, produção e acúmulo de biomassa no período de 3 semanas, entre o dia 23 de janeiro e 17 de fevereiro.

Florações de *O*. cf. *ovata* também já foram encontradas em outras localidades no Brasil, como a praia do Forte na Bahia (De'Carli, 2014; Nascimento et al., 2020), o Arquipélago (oceânico) de São Pedro e São Paulo (Nascimento et al., 2012b) e o Arquipélago (costeiro) de Currais, Paraná (Tibiriçá et al., 2019) com presença ou não de biofilme (Tab. 6). Recentemente, em 2018, a espécie *Ostreopsis lenticularis* foi encontrada no Arquipélago de Fernando de Noronha em grande densidade, sendo que *O*. cf. *ovata* também estava presente junto com *O*. *lenticularis* (Borsato et al., 2020).

A avaliação de dados meteorológicos como precipitação, radiação global, pressão atmosférica, temperatura do ar e velocidade do vento no período que antecedeu as florações de *O*. cf. *ovata* entre 2006-2021 em Arraial do Cabo mostrou uma ampla variação nos valores, especialmente de radiação global e ventos, natural da região. O efeito da intensidade e direção do vento sobre a formação de florações de *O*. cf. *ovata* na área de estudo precisa ser melhor avaliado, mas ressalta-se que os locais de amostragem neste estudo abrangem áreas abrigadas do vento. No arquipélago de Currais, a floração de *O*. cf. *ovata* foi encontrada sob condições de velocidade do vento diminuindo de 6,6 m/s para 4,3 m/s (Tibiriçá et al., 2019).

Local	Data	Densidade	Macroalga	Fonte
Tartaruga-AB, RJ	10/jun/06	2,3 x 10 ⁵	Laurencia sp.	Monteiro, 2007
Forno-AC, RJ	05/dez/06	2,1 x 10 ⁴	Amphiroa fragillissima	Monteiro, 2007
Tartaruga-AB, RJ	23/jan/07	2,6 x 10 ⁴	Hincksia mitchelliae	Monteiro, 2007
Forno-AC, RJ	24/abr/07	4,3 x 10 ⁴	Spyridia aculeata	Souza, 2010
Tartaruga-AB, RJ	20/jul/07	6,4 x 10 ⁴	Canistrocarpus cervicornis	Alencar, 2010
Arquipélago de São Pedro e São Paulo	05/jul/09	9,9 x 10 ⁴	Laurencia sp.	Nascimento et al., 2012
Forno-AB, RJ	17/dez/12	4,6 x 10 ⁵	Sargassum spp.	Cockell, 2014
Forte, BA	23-31/jan/13	5,6 x 10 ⁴	Canistrocarpus crispatus	De'Carli, 2014
Arquipélago de Currais, PR	22/feb/17	5,6 x 10 ⁵	Não identificado	Tibiriçá et., 2019
Anjos-AC, RJ	24/jan/20	2,9 x 10 ⁴	Hypnea spinella	Esse estudo
Forno-AB, RJ	17/fev/20	8,4 x 10 ⁴	Amphiroa spp.	Esse estudo
Anjos-AC, RJ	03/jun/20	3,1 x 10 ⁵	Laurencia cf. dendroidea	Esse estudo
Prainha-AC, RJ	27/ago/20	2,2 x 10 ⁵	Laurencia cf. dendroidea	Esse estudo

Tabela 6: Densidades máximas (céls.gPU⁻¹ macroalga) de *Ostreopsis* cf. *ovata* em eventos de floração no Brasil.

AB: Armação dos Búzios, AC: Arraial do Cabo

A pressão atmosférica foi usada como um indicador da estabilidade do tempo, já que um aumento na pressão atmosférica significa aumento de temperatura e maior retenção do vapor d'água, impedindo a formação de nuvens. Observou-se uma tendência de aumento da pressão atmosférica nos 5 dias anteriores ao registro de 10 eventos de floração. Em conjunto, a temperatura média do ar e a precipitação no período das quatro semanas anteriores indicam que as florações tendem a ocorrer em períodos de temperatura máis elevada e de tempo estável.

A temperatura da água parece ser um dos principais fatores que determinam a ocorrência de florações de *O*. cf. *ovata*, afetando tanto o crescimento, como a toxicidade da espécie (Granéli et al., 2011). Os valores de temperatura durante as florações de 2020 indicam a ocorrência de ressurgência intensa no período que antecedeu a floração em janeiro na praia dos Anjos (evento A3), e ressurgência por períodos mais curtos, ou que afetaram a área apenas marginalmente, nos eventos A4 e P5.

A ressurgência ocorre quando ventos Leste (L) e Nordeste (NE) permitem que a ACAS, localizada a 300 metros de profundidade, atinja camadas mais superficiais do oceano (Gonzalez-Rodriguez et al., 1992). Essa água, além de fria, é rica em fosfato e nitrato, adicionando nutrientes a zona eufótica (Guimaraens e Coutinho, 2000).

Portanto, os eventos de ressurgência que antecederam as florações de 2020, especialmente em janeiro, podem ter disponibilizado nutrientes que estimularam o crescimento de O. cf. ovata. Além disso, em janeiro, evento no qual a ressurgência foi mais evidente e intensa, havia uma grande diversidade de outras microalgas em conjunto que também podem ter sido beneficiadas. Essa hipótese é reforçada pelos trabalhos de produtividade primária do fitoplâncton (Guimaraens et al., 2005) e bacteriana (Coelho-Souza et al., 2013) em Arraial do Cabo. Além disso, uma floração de O. cf. ovata na praia do Forno-AB no verão de 2012-2013 ocorreu cerca de um mês após um evento de ressurgência da ACAS, que provavelmente fertilizou a área rasa da praia com nutrientes. A floração foi observada entre dezembro de 2012 e fevereiro de 2013 e o monitoramento contínuo da temperatura da água do mar na praia mostrou que as águas frias (< 19 °C) da ACAS permaneciam no local por no máximo 44 horas e eram intercaladas pela presença de águas mais quentes durante a floração, até que após 7 dias de água com temperatura abaixo de 19 °C, a floração finalmente chegou ao fim (Cockell, 2014). Nos três eventos de floração em 2020 em Arraial do Cabo, a temperatura da água foi menor que 19 °C (17,6 °C) em apenas um dia, e temperaturas  $\leq$ 20 °C, indicadoras de ressurgência, permaneceram por no máximo 72 horas.

Portanto, a ressurgência da ACAS em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios, é provavelmente um importante fator que estimula as florações de *O*. cf. *ovata* nesses locais por meio do aporte de nutrientes. Por outro lado, exposições prolongadas às águas frias da ressurgência (< 19 °C) por períodos mais longos, podem ser intoleráveis para *O*. cf. *ovata*. Dados da temperatura da superfície do mar (SST, de satélite) de dois anos na Península Ibérica mostraram que a espécie precisa de temperaturas acima de 19,5 °C por 3 meses para conseguir se estabelecer na região (David et al., 2012).

Em outros eventos de floração em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios, como na praia do Forno-AC em abril de 2007 e na praia da Tartaruga-AB em julho de 2006, a temperatura na hora da amostragem foi de 26,5 °C e 23,2 °C (Alencar, 2010; Souza, 2010), valores semelhantes aos dos eventos de 2020. Nas florações ocorridas em 1998 e 2001/2002 a temperatura da água foi maior que 20 °C nas semanas anteriores aos eventos e atingiu 25 °C durante as florações (Granéli et al., 2002). Segundo esses autores, o aumento na temperatura da água teria sido um fator importante para desencadear as primeiras florações de *O*. cf. *ovata* na região e não houve relação com eventos de ressurgência.

Em outros locais no Brasil, florações de *O*. cf. *ovata* foram registradas em 2017 e 2018 no mês de fevereiro no Arquipélago de Currais, quando a temperatura da água foi de 28 °C (Tibiriçá et al., 2019). No Arquipélago de São Pedro e São Paulo, onde a temperatura da água varia entre 24 e 28,5 °C uma floração de *O*. cf. *ovata* foi encontrada em julho de 2009 (Nascimento et al., 2012b).

As florações de *O*. cf. *ovata* no Mar Mediterrâneo ocorrem entre a primavera e outono quando a temperatura é mais elevada (Accoroni e Totti, 2016). Dados de SST mostram que o Mediterrâneo apresenta médias anuais entre 14-15°C no inverno, e 22-26 °C no verão (García-Monteiro et al., 2022). No mar Egeu, por exemplo, florações de *O*. cf. *ovata* foram observadas em temperaturas de 13,9-29,7 °C entre o meio do verão e fim do outono (Aligizaki e Nikolaidis, 2006). No norte do Mar Adriático as maiores densidades de *O*. cf. *ovata* ocorreram em setembro/outubro em temperaturas entre 18,8 °C e 24 °C, porém o início desses eventos foi sempre observado em temperaturas altas, de 25-28,6 °C. Esses dados indicam que o ambiente precisa atingir uma temperatura mínima para que *O*. cf. *ovata* inicie sua floração (Accoroni et al., 2015), que por sua vez estaria relacionada com a germinação dos cistos que geralmente ocorrem em torno de 25°C (Accoroni et al., 2014).

Considerando os registros de florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo, 7 dos 19 eventos ocorreram nos meses de dezembro e janeiro, 3 ocorreram em novembro e em maio e 1 evento foi observado nos meses de março, abril, agosto, setembro e outubro. A maioria dos eventos de florações de *O*. cf. *ovata* ocorreu no verão e na primavera, coincidindo com o período de maior incidência luminosa, fotoperíodo, temperatura do ar e quando a ressurgência é mais intensa.

Análises sobre o efeito de nutrientes como desencadeadores de eventos de floração do gênero *Ostreopsis* apresentaram resultados não conclusivos (Accoroni e Totti, 2016). Trabalhos no Noroeste do Mediterrâneo sobre *O*. cf. *ovata* (Cohu et al., 2011; Vila et al., 2001) e Nordeste da Nova-Zelândia sobre *O*. *siamensis* (Shears e Ross, 2009) não encontraram relação entre as densidades de *Ostreopsis* e a concentração de nutrientes na água. No Havaí, correlação positiva foi encontrada entre as concentrações de nutrientes e *Ostreopsis* sp. (Parsons e Preskitt, 2007).

As florações em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios ocorreram em locais rasos, com biofilmes de *O*. cf. *ovata* formados em profundidades de até 1 m. Esse resultado também foi observado em locais no Mediterrâneo (Brissard et al., 2014; Cohu e Lemée, 2012; Gémin et al., 2020; Totti et al., 2010), e no Arquipélago de Currais

(Tibiriçá et al., 2019), onde maiores densidades foram encontradas em menores profundidades. A maior biomassa de *O*. cf. *ovata* em profundidades rasas está provavelmente relacionada com a maior intensidade luminosa nesses locais. A luz é um importante fator para *O*. cf. *ovata*, como foi observado em uma cepa da espécie isolada de Villefranche-sur-Mer, no Mediterrâneo, que em condições laboratoriais apresentou taxas de crescimento significativamente maiores em iluminação de 400 e 600 µmol de fluxo de fótons m⁻²s⁻¹ em comparação com a luminosidade de 200 µmol m⁻²s⁻¹ (Gémin et al., 2021). Em cepas do Golfo de Nápoles, por outro lado, células apresentaram maior crescimento em concentrações de 50 µmol de fluxo de fótons m⁻²s⁻¹ em comparação com concentrações de 200 µmol de fluxo de fótons m⁻²s⁻¹ em comparação com o fotoperíodo de 12 horas, em comparação com o fotoperíodo de 15 horas, no qual foi observado fotosaturação (Scalco et al., 2012)

Além de serem áreas rasas e protegidas do vento, os locais de amostragem em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo, no geral, estão protegidos da ação mecânica da água do mar. O hidrodinamismo também é considerado um fator importante para as florações de *O*. cf. *ovata*, com maiores densidades sendo encontradas em locais mais protegidos da ação das ondas (Nascimento et al., 2012b; Pfannkuchen et al., 2012; Shears e Ross, 2009). No Arquipélago de São Pedro e São Paulo, a floração de *O*. cf. *ovata* foi encontrada em uma área protegida da intensa ação das ondas da região (Nascimento et al., 2012b).

As atividades antrópicas também podem ser uma fonte de nutrientes para florações de algas nocivas, e alguns estudos mostraram relação entre a ocorrência de florações de *O*. cf. *ovata* em locais mais impactados por esgoto (Ungano et al., 2010), com elevada urbanização (Meroni et al., 2018) e maior densidade populacional (Cohu et al., 2013), além de impactos costeiros, associados a pressões urbanas, agrícolas, industriais e fluviais (Kuzat et al., 2021). A região de Arraial do Cabo e de Armação dos Búzios faz parte do chamado polo turístico Costa do Sol, e apesar de ser um dos principais pontos turísticos do país, atraindo turistas internacionais, apresenta em sua infraestrutura um dos piores indicadores ambientais (saneamento básico, coleta de lixo e disponibilidade de água potável) no Estado do Rio de Janeiro (Fonseca, 2011). Um exemplo é o lançamento esporádico de esgoto que ocorre na praia dos Anjos, que já se mostrou responsável pelo aumento da produção bacteriana nessa praia (Coelho-Souza et al., 2013) e poderia contribuir como fonte de nutrientes para as florações de *O*. cf.

*ovata*. Além disso, o esgoto de fontes difusas, como casas e estabelecimentos comerciais também pode ser fonte de nutrientes nas praias dos Anjos e Prainha, duas praias urbanizadas. Em contraste, a praia do Forno, cujo acesso é feito por uma trilha, não apresenta nenhuma construção e assim não recebe lançamento de esgotos, mas é frequentada por grande número de banhistas.

O papel das interações bióticas como competição e predação e seus efeitos sobre a formação de florações de *O*. cf. *ovata* foram pouco estudados. A análise da composição do biofilme de janeiro de 2020 na praia dos Anjos mostrou a presença não só de *O*. cf. *ovata*, mas também de diferentes espécies de diatomáceas e cianobactérias. Esse resultado difere de outras florações em que a espécie proliferou de forma quase monoespecífica. Na Croácia, por exemplo, um denso biofilme foi dominado por *O*. cf. *ovata* e as espécies *O*. cf. *siamensis* e *Coolia monotis* foram encontradas em densidades relativas baixas (< 10%), e a diatomácea *Actinocyclus* em proporções abaixo de 1%. Apenas após a densidade de *O*. cf. *ovata* decair de forma acentuada, essa diatomácea foi capaz de apresentar maior contribuição no biofilme, indicando um possível efeito alelopático (Pfannkuchen et al., 2012). Em outro estudo na Croácia, no mar adriático, *O*. cf *ovata* atingiu a densidade máxima de 2,7 x 10⁶ cels.gPU⁻¹ macroalga, e *C. monotis* também estava presente durante essa floração, e em densidades altas, apesar de inferiores às de *O*. cf. *ovata*, chegando a 2,7 x 10⁵ cels.gPU⁻¹ macroalga (Ninčević Gladan et al., 2019).

A diversidade e representatividade de microalgas e cianobactérias encontrada em janeiro de 2020 no biofilme sobre macroalgas sofreu mudança drástica entre os dias 22 e 24, com a entrada de uma frente fria, com ventos e chuva que tornaram o mar mais agitado, removendo grande parte da biomassa de diatomáceas e cianobactérias, e, restando praticamente *O.* cf. *ovata*, que representou 86% da densidade no dia 24, indicando uma possível efetividade da mucilagem produzida por essa espécie em mantê-la associada ao substrato, resistindo ao efeito diluidor da ação das ondas. Esse dinamismo nas populações epibênticas de *O.* cf. *ovata* também foi observado na costa da Croácia, onde a densidade da população variou de acordo com as mudanças meteorológicas, nesse caso tempestades e ação das ondas, que quanto mais intensas, aumentavam a população planctônica, pela desassociação de células de *O.* cf. *ovata* de seus substratos. Em condições mais calmas, menos células eram desassociadas dos substratos. No momento em que as ondas foram constantes e intensas, sem intercalar

com momentos mais calmos, a população bentônica de *O*. cf. *ovata* foi incapaz de se restabelecer e a floração acabou (Pfannkuchen et al., 2012).

Em relação as densidades de *O*. cf. *ovata* em diferentes espécies de macroalgas que servem de substrato, os maiores valores encontrados em 2020 foram associados a algas vermelhas, sobretudo a espécie *Laurencia* cf. *dendroidea*. Esse gênero de macroalga apresentou densidades elevadas (ex:  $2,3 \times 10^5$ ;  $9,3 \times 10^4$  e  $9,9 \times 10^4$  céls.gPU⁻¹) em eventos anteriores na região e no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (Cockell, 2014; Monteiro, 2007; Nascimento et al., 2012b). Trabalhos anteriores levantaram a hipótese de que maiores densidades do gênero *Ostreopsis* em certas espécies de macroalgas estão relacionadas a sua morfologia, com preferência para talos ramificados, flexíveis e tridimensionalmente complexos (Accoroni et al., 2012; Battocchi et al., 2010). Além disso, a capacidade de síntese de compostos bioativos potencialmente benéficos, como na espécie *Ulva fasciata*, ou não benéficos, como na espécie *Cystoseira amentacea*, também é uma hipótese que pode indicar a preferência de espécies de *Ostreopsis* por diferentes macroalgas (Meroni et al., 2018; Parsons e Preskitt, 2007).

As florações de *O*. cf. *ovata* tem causado impacto às populações de ouriços-domar em Arraial do Cabo desde o primeiro evento em 1998, que levou ao declínio médio de 57% da população da espécie *E. lucunter* ao longo do costão rochoso da Pedra Vermelha, na Ilha de Cabo Frio. Em um dos pontos (3 metros de extensão do costão) a abundância de *E. lucunter* passou de 56 indivíduos, para 11 indivíduos, uma queda de 80%. Dois anos após esse evento, a abundância do ouriço não retornou aos valores de antes da floração e continuou semelhante aos valores encontrados dias após a floração (Silva et al., 2021). Desde então, indivíduos com perda de espinhos e necrose têm sido observados em diferentes praias de Arraial do Cabo (Fig. 5).

Apesar desse longo histórico de florações e impactos sobre ouriços-do-mar em Arraial do Cabo, a investigação do acúmulo de toxinas nesses organismos ainda não havia sido realizada. A análise por HPLC/MS-MS do tubo digestivo de ouriços-do-mar da praia dos Anjos, coletados em janeiro de 2020 durante uma floração (densidade de até 2,9 x 10⁴ céls.gPU⁻¹ *H. spinella*) indicou a presença de compostos análogos a palytoxina ou "PLTX-like" em indivíduos da espécie *Echinometra lucunter*. Nos dois indivíduos da espécie *Lytechinus variegatus*, esses compostos não foram encontrados. Diferenças entre as transições do padrão de PLTX e dos compostos encontrados nos tecidos dos ouriços impediram a identificação inequívoca e a quantificação dessas toxinas. Nos ouriços foram encontrados indícios da presença das toxinas OVTX-d/e e PLTX. Em contraste, cepas de *O*. cf. *ovata* isoladas de Armação dos Búzios, e florações de *O*. cf. *ovata* de Arraial do Cabo e Armação dos Búzios apresentaram um perfil com predominância de OVTX-a e OVTX-b (Nascimento et al., 2020, 2012a). Essa diferença na composição de toxinas entre o organismo produtor e o animal que o ingeriu pode ser resultado de biotransformações que ocorrem dentro do ouriço. Ressalta-se as dificuldades relacionadas à determinação dessas toxinas em tecidos animais, especialmente porque não há padrões comerciais das ovatoxinas, mas apenas da palytoxina, o que restringe a capacidade analítica.

Usando a mesma metodologia, a presença de fragmentos característicos de PLTX isobárica, OVTX-a, OVTX-b e OVTX-d foi encontrada em amostras de peixes *Seriola rivoliana* (olho de boi), associados ao surto da doença de Haff em Salvador em 2020 (Cardoso et al., 2022). De forma semelhante aos resultados encontrados nos ouriços de Arraial do Cabo, não foi possível quantificar essas toxinas nos peixes devido a mesma razão. Esses resultados podem estar relacionados com a biotransformação das OVTXs nesses animais, como ocorre por exemplo com as saxitoxinas e análogos produzidos por *Gymnodinium catenatum*. Essas toxinas quando ingeridas pelos moluscos *Mytilus galloprovincialis, Cerastoderma edule* e *Solen marginatus* são biotransformadas (Botelho et al., 2020).

A presença de toxinas "PLTX like" nos ouriços-do-mar em Arraial do Cabo, mesmo em indivíduos sem danos aparentes, como necrose ou perda de espinhos, indica que esses animais estão sofrendo impactos que vão além dos danos morfológicos visíveis. Ensaios de laboratório de exposição do ouriço *L. variegatus* à *O. cf. ovata* mostraram a diminuição da taxa de fecundação e aumento no número de larvas deformadas de *L. variegatus* (Neves et al., 2018). Em outra espécie de ouriço, *Paracentrotus lividus*, adultos expostos a floração de *O. cf. ovata* apresentaram uma baixa taxa de fertilização, juntamente com concentrações altas de óxido nítrico (NO) nas gônadas e a nitração da MYP ("major yolk protein"), que possui um importante papel no desenvolvimento do ouriço-do-mar. As proles desses adultos apresentaram anomalias graves no seu desenvolvimento que foram persistentes vários meses após a floração. Os níveis de NO foram elevados nos diferentes estágios de desenvolvimento, o que causou variações na transcrição de vários genes que são modulados direta ou indiretamente pelo NO (Migliaccio et al., 2016). Os ouriços-do-mar possuem um papel ecológico chave em ecossistemas costeiros, pois são um herbívoro importante nos costões rochosos. Em um estudo realizado em Arraial do Cabo observou-se que em locais com maiores densidades de *Echinometra lucunter* houve uma maior cobertura da esponja *Darwinella* sp. indicando que esse ouriço controla a população de macroalgas por herbivoria, permitindo que outras espécies menos competitivas ocupem o costão rochoso (Calderon et al., 2007).

A presença de PLTX-like em ouriços indica que essas toxinas podem estar sendo distribuídas pela rede trófica marinha através do consumo de ouriços que bioacumularam tais toxinas. A presença de PLTX-like já foi verificada em peixes, crustáceos, e moluscos, e seus consumidores podem sofrer os efeitos da intoxicação com tais moléculas (Aligizaki et al., 2011; Amzil et al., 2012; Mebs, 1998).

Portanto, além dos ouriços, outros animais também estão provavelmente expostos às toxinas de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios. Por exemplo, a praia do Forno-AC, um dos locais que apresentou maior número de florações de *O*. cf. *ovata* na região, possui três fazendas de cultivo de moluscos bivalves (Souza et al., 2015). Esses organismos podem servir de vetores de toxinas para consumidores humanos. No Arquipélago de Currais, concentrações de OVTXs em níveis acima do recomendado para o consumo humano foram encontradas após a exposição por 24 h do mexilhão *Perna perna* à floração de *O*. cf. *ovata* em densidade 5,6 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ macroalga (Tibiriçá et al., 2019).

As cidades de Armação do Búzios e Arraial do Cabo possuem um longo histórico de florações de *O*. cf. *ovata* desde 1998, em praias calmas e rasas. A maioria dos eventos ocorreu no verão e primavera, quando a temperatura atmosférica e a incidência solar são mais altas. A ressurgência da ACAS também é mais frequente entre a primavera e o verão, e pode contribuir com nutrientes para a proliferação de *O*. cf *ovata*, assim como o lançamento de esgoto doméstico. Impactos negativos nos ouriços-do-mar de Arraial, incluindo perda de espinhos e mortandade em massa tem sido verificado desde 1998 e foram encontrados indícios da presença de compostos "PLTX like" no tubo digestivo de animais expostos a floração de janeiro de 2020 na praia dos Anjos. Esse histórico indica a possibilidade de outros organismos e pessoas também estarem propensas a intoxicação por meio de compostos produzidos por *O*. cf. *ovata*, uma vez que os ouriços foram capazes de bioacumular essas toxinas e podem ser um meio de introdução na rede trófica.

### 6. Conclusão

Florações de *O*. cf. *ovata* são fenômenos recorrentes na região de Arraial do Cabo e Armação dos Búzios, com um total de 19 e 5 eventos registrados, respectivamente, entre 1998-2021. Impactos sobre os ouriços-do-mar das espécies *Echinometra lucunter* e *Lytechinus variegatus*, incluindo mortandade em massa, foram observados ao longo desses anos e esse estudo é o primeiro a indicar a presença e acúmulo de compostos "PLTX like" no tubo digestivo desses organismos.

Os dados meteorológicos, principalmente radiação solar e velocidade dos ventos, não apresentaram um padrão claro nas quatro semanas que antecederam os 16 eventos. Em dez eventos analisados houve uma tendência de aumento na pressão atmosférica nos 5 dias anteriores ao registro dos eventos, com precipitação baixa observada em todos os eventos. As florações em Arraial do Cabo ocorreram, principalmente, entre novembro e maio, com 6 dos 19 eventos sendo registrados tanto no verão quanto na primavera, quando há maior intensidade luminosa e temperaturas mais altas.

Florações de *O*. cf. *ovata* com densidades máximas de 2,9 x  $10^4$ -3,1 x  $10^5$  céls.gPU⁻¹ foram encontradas em 2020, em janeiro e junho na praia dos Anjos-AC, em agosto na Prainha-AC e em fevereiro na praia do Forno-AB. Em contraste, na praia da Tartaruga-AB as densidades de dinoflagelados epi-bentônicos foram menores que 120 céls.gPU⁻¹ e *Prorocentrum* foi dominante.

As praias do Forno, Anjos e Prainha em AC e Forno-AB mostraram-se áreas propícias para o desenvolvimento de florações de *O*. cf. *ovata*, confirmando a tendência observada em estudos realizados anteriormente na região, o que está provavelmente relacionado às suas características de enseadas abrigadas do vento e da ação direta das ondas e pela amostragem ter sido realizada em locais rasos, com maiores intensidades luminosas.

A ressurgência da ACAS, que fertiliza as águas superficiais e rasas da região podem contribuir com nutrientes que estimulam as florações de *O*. cf. *ovata* em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios, como provavelmente ocorreu em janeiro de 2020, quando temperaturas da água indicativas desse fenômeno foram constantes ao longo das 4 semanas que antecederam a floração. O lançamento de esgoto doméstico também pode ser uma fonte de nutrientes para as florações de *O*. cf. *ovata* na praia dos Anjos e na Prainha em AC. Estudos que identifiquem a fonte dos nutrientes que são usados por *O*. cf. *ovata* são necessários para avaliar essas hipóteses.

A composição do biofilme sobre macroalgas calcáreas na praia dos Anjos mudou drasticamente em um intervalo de 2 dias. No dia 22 de janeiro de 2020 havia diversidade de cianobactérias e microalgas, incluindo *O*. cf. *ovata*. Após a entrada de uma frente fria que causou queda na temperatura do ar e maior agitação do mar, no dia 24 de janeiro, *O*. cf. *ovata* passou a representar 86% da densidade de espécies encontradas, o que está provavelmente relacionado à maior efetividade da sua mucilagem em mantê-lo aderido ao substrato.

O perfil de toxinas encontrado no ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* difere daquele de cepas e amostras das florações de *O*. cf. *ovata* na região, o que é provavelmente causado por biotransformações pelo metabolismo dos ouriços. Ressaltase as dificuldades relacionadas à determinação dessas toxinas em tecidos animais.

O acúmulo de compostos PLTX-like em ouriços-do-mar pode trazer riscos ao ecossistema local, por meio da introdução de OVTXs na rede trófica e indicam a possibilidade de outros animais marinhos, inclusive aqueles consumidos por pessoas, como moluscos, estarem bioacumulando essas toxinas, o que pode ser prejudicial para a saúde da população.

Recomenda-se o monitoramento das florações de *O*. cf. *ovata* em Armação dos Búzios e Arraial Cabo, assim como a investigação dos possíveis fatores bióticos e abióticos que expliquem a frequente ocorrência de florações.

#### 7. Referências bibliográficas

- Accoroni, S., Glibert, P.M., Pichierri, S., Romagnoli, T., Marini, M., Totti, C., 2015. A conceptual model of annual *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms in the northern Adriatic Sea based on the synergic effects of hydrodynamics, temperature, and the N:P ratio of water column nutrients. Harmful Algae 45, 14–25. https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.04.002
- Accoroni, S., Romagnoli, T., Penna, A., Capellacci, S., Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Tartaglione, L., Abboud–Abi Saab, M., Giussani, V., Asnaghi, V., Chiantore, M., Totti, C., 2016. Ostreopsis fattorussoi sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic toxic Ostreopsis species from the eastern Mediterranean Sea. J. Phycol. 52, 1064–1084. https://doi.org/10.1111/jpy.12464
- Accoroni, S., Romagnoli, T., Pichierri, S., Colombo, F., Totti, C., 2012. Morphometric analysis of *Ostreopsis* cf. *ovata* cells in relation to environmental conditions and bloom phases. Harmful Algae. https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.05.003

- Accoroni, S., Romagnoli, T., Pichierri, S., Totti, C., 2014. New insights on the life cycle stages of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata*. Harmful Algae. https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.02.003
- Accoroni, S., Totti, C., 2016. The toxic benthic dinoflagellates of the genus Ostreopsis in temperate areas: a review. Adv. Oceanogr. Limnol. 7. https://doi.org/10.4081/aiol.2016.5591
- Adachi, R., Fukuyo, Y., 1979. The thecal structure of a marine toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* gen. et sp. nov. collected in a ciguatera-endemic area. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45, 67–71.
- Agardh, J.G., 1852. Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Volumen secundum: algas florideas complectens, 2nd ed.
- Alencar, A.G. de, 2010. Ecologia da comunidade de dinoflagelados epífitos da praia da Tartaruga, Armação de Búzios, RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Aligizaki, K., Katikou, P., Milandri, A., Diogène, J., 2011. Occurrence of palytoxingroup toxins in seafood and future strategies to complement the present state of the art. Toxicon 57, 390–399. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.11.014
- Aligizaki, K., Nikolaidis, G., 2006. The presence of the potentially toxic genera Ostreopsis and Coolia (Dinophyceae) in the North Aegean Sea, Greece. Harmful Algae 5, 717–730. https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.02.005
- Amzil, Z., Sibat, M., Chomerat, N., Grossel, H., Marco-Miralles, F., Lemee, R., Nezan,
  E., Sechet, V., 2012. Ovatoxin-a and Palytoxin Accumulation in Seafood in
  Relation to *Ostreopsis* cf. *ovata* Blooms on the French Mediterranean Coast. Mar.
  Drugs 10, 477–496. https://doi.org/10.3390/md10020477
- Battocchi, C., Totti, C., Vila, M., Masó, M., Capellacci, S., Accoroni, S., Reñé, A., Scardi, M., Penna, A., 2010. Monitoring toxic microalgae Ostreopsis (dinoflagellate) species in coastal waters of the Mediterranean Sea using molecular PCR-based assay combined with light microscopy. Mar. Pollut. Bull. 60, 1074– 1084. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.01.017
- Berdalet, E., Fleming, L.E., Gowen, R., Davidson, K., Hess, P., Backer, L.C., Moore, S.K., Hoagland, P., Enevoldsen, H., 2016. Marine harmful algal blooms, human health and wellbeing: Challenges and opportunities in the 21st century. J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom 96, 61–91.

https://doi.org/10.1017/S0025315415001733

- Berdalet, E., Tester, P., Chinain, M., Fraga, S., Lemée, R., Litaker, W., Penna, A., Usup, G., Vila, M., Zingone, A., 2017. Harmful Algal Blooms in Benthic Systems:
  Recent Progress and Future Research. Oceanography. https://doi.org/10.5670/oceanog.2017.108
- Biré, R., Trotereau, S., Lemée, R., Delpont, C., Chabot, B., Aumond, Y., Krys, S., 2013. Occurrence of palytoxins in marine organisms from different trophic levels of the French Mediterranean coast harvested in 2009. Harmful Algae 28, 10–22. https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.04.007
- Biré, R., Trotereau, S., Lemée, R., Oregioni, D., Delpont, C., Krys, S., Guérin, T., 2015.
  Hunt for Palytoxins in a Wide Variety of Marine Organisms Harvested in 2010 on the French Mediterranean Coast. Mar. Drugs 13, 5425–5446. https://doi.org/10.3390/md13085425
- Borsato, G.T., Salgueiro, F., da Silva, C.G.T., Menezes-Salgueiro, A.D., Nascimento, S.M., 2020. Ostreopsis lenticularis Y. Fukuyo (Dinophyceae, Gonyaulacales) from the South Atlantic Ocean: morphological and molecular characterization. Mar. Pollut. Bull. 158, 111441. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111441
- Botelho, M.J., Marques, F., Freitas, R., Pires, A., Pereira, E., Vale, C., 2020. Paralytic shellfish toxin profiles in mussel, cockle and razor shell under post-bloom natural conditions: Evidence of higher biotransformation in razor shells and cockles. Mar. Environ. Res. 154, 104839. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.104839
- Brissard, C., Herrenknecht, C., Séchet, V., Hervé, F., Pisapia, F., Harcouet, J., Lémée, R., Chomérat, N., Hess, P., Amzil, Z., 2014. Complex toxin profile of French Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* strains, seafood accumulation and ovatoxins prepurification. Mar. Drugs 12, 2851–2876. https://doi.org/10.3390/md12052851
- Calderon, E.N., Zilberberg, C., Paiva, P.C. De, 2007. The possible role of *Echinometra lucunter* (Echinodermata: Echinoidea) in the local distribution of *Darwinella* sp. (Porifera : Dendroceratida) in Arraial do Cabo , Rio de Janeiro State, Brazil. Porifera Res. Biodiversity, Innov. Sustain.
- Cardoso, C.W., Oliveira e Silva, M.M., Bandeira, A.C., Silva, R.B., Prates, A.P.P.B., Soares, Ê.S., Silva, J.J.M., de Souza, L.J.R., Souza, M.M. da S., Muhana, M.A., Pires, R.S.S., Araujo Neto, J.F., Santos, M.S.S., Mafra Junior, L.L., Alves, T.P., Schramm, M.A., Ribeiro, G.S., 2022. Haff Disease in Salvador, Brazil, 2016-2021: Attack rate and detection of toxin in fish samples collected during outbreaks and

disease surveillance. Lancet Reg. Heal. - Am. 5, 100092. https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100092

- Castro, B.M., Miranda, L.B., 1998. Physical oceanography of the western Atlantic continental shlef located between 4°N and 34°S - costal segment (4w)., in: Robinson, A.R., Brink, K.H. (Eds.), The Sea. John Wiley & Sons, pp. 209–251.
- Chomérat, N., Bilien, G., Viallon, J., Hervé, F., Réveillon, D., Henry, K., Zubia, M., Vieira, C., Ung, A., Gatti, C.M. iti, Roué, M., Derrien, A., Amzil, Z., Darius, H.T., Chinain, M., 2020. Taxonomy and toxicity of a bloom-forming *Ostreopsis* species (Dinophyceae, Gonyaulacales) in Tahiti island (South Pacific Ocean): one step further towards resolving the identity of *O. siamensis*. Harmful Algae 98, 101888. https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101888
- Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Forino, M., Magno, G.S., Tartaglione,
  L., Grillo, C., Melchiorre, N., 2006. The Genoa 2005 Outbreak. Determination of
  Putative Palytoxin in Mediterranean *Ostreopsis ovata* by a New Liquid
  Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method. Anal. Chem. 78, 6153–
  6159. https://doi.org/10.1021/ac060250j
- Cockell, T. da C., 2014. Floração de *Ostreopsis* cf. *ovata* no verão de 2013 na praia do Forno, Armação de Búzios, Rio de Janeiro. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.
- Coelho-Souza, S.A., Pereira, G.C., Coutinho, R., Guimarães, J.R.D., 2013. Yearly variation of bacterial production in the Arraial do Cabo protection area (Cabo Frio upwelling region): an evidence of anthropogenic pressure. Brazilian J. Microbiol. 44, 1349–1357. https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000400046
- Coelho-Souza, S.A., Pereira, G.C., Lopez, M.S., Guimaraes, J.R.D., Coutinho, R., 2017. Seasonal sources of carbon to the Brazilian upwelling system. Estuar. Coast. Shelf Sci. 194, 162–171. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.06.013
- Cohu, S., Lemée, R., 2012. Vertical distribution of the toxic epibenthic dinoflagellates *Ostreopsis* cf. *ovata*, *Prorocentrum lima* and Coolia monotis in the NW Mediterranean Sea, in: Cahiers de Biologie Marine. https://doi.org/10.21411/cbm.a.52bcacc4
- Cohu, S., Mangialajo, L., Thibaut, T., Blanfuné, A., Marro, S., Lemée, R., 2013. Proliferation of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in relation to depth, biotic substrate and environmental factors in the North West Mediterranean Sea. Harmful Algae 24, 32–44. https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.01.002

- Cohu, S., Thibaut, T., Mangialajo, L., Labat, J.-P., Passafiume, O., Blanfuné, A., Simon, N., Cottalorda, J.-M., Lemée, R., 2011. Occurrence of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in relation with environmental factors in Monaco (NW Mediterranean). Mar. Pollut. Bull. 62, 2681–2691. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.022
- David, H., Ganzedo, U., Laza-Martínez, A., Orive, E., 2012. Relationships between the Presence of Ostreopsis (Dinophyceae) in the Atlantic Coast of the Iberian Peninsula and Sea-Surface Temperature. Cryptogam. Algol. 33, 199–207. https://doi.org/10.7872/crya.v33.iss2.2011.199
- De'Carli, G. de A. e L., 2014. Distribuição e abundância de dinoflagelados epibentônicos na costa nordeste do Brasil. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.
- Ehrenberg, C.G., 1834. Dritter Beitrag zur Erkenntniss grosser Organisation in der Richtung des kleinsten Raumes. Abhandlungen der Königlichen Akad. der Wissenschaften zu Berlin.
- Eschweiler, F.G., Martius, K.F.P. von, Nees von Esenbeck, C. G., Nees von Esenbeck, Christian Gottfried, Tully, N.S., 1829. Flora Brasiliensis; seu Enumeratio plantarum in Brasilia tam sua sponte quam accedente cultura provenientium, quas in itinere auspiciis Maximiliani Josephi I. Bavariae regis annis 1817-1820 peracto collegit, partim descripsit; alias a Maximiliano seren. p. Sumptibus J. G Cottae, Stuttgartiae. https://doi.org/10.5962/bhl.title.6159
- Faust, M.A., 1999. Three new Ostreopsis species (Dinophyceae): O. marinus sp. nov., O. belizeanus sp. nov., and O. caribbeanus sp. nov. Phycologia. 38, 92–99. https://doi.org/10.2216/i0031-8884-38-2-92.1
- Faust, M.A., Morton, S.L., 1995. Morphology and ecology of the marine dinoflagellate Ostreopsis labens sp. nov. (Dinophyceae). J. Phycol. 31, 456–463. https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00456.x
- Ferreira, C.E.L., 2006. Sea Urchins Killed by Toxic Algae. JMBA Glob. Mar. Environ. 3, 22–23.
- Fonseca, M.A.P., 2011. Turismo e divisão territorial do trabalho no polo Costa o Sol/RJ. Mercator 10, 121–132. https://doi.org/10.4215/RM2011.1021.0008
- Fukuyo, Y., 1981. Taxonomical Study on Benthic Dinoflagellates Collected in Coral Reefs. Bull. Japanese Soc. Sci. Fish. 47, 967–978. https://doi.org/10.2331/suisan.47.967

- Funari, E., Manganelli, M., Testai, E., 2015. Ostreospis cf. ovata blooms in coastal water: Italian guidelines to assess and manage the risk associated to bathing waters and recreational activities. Harmful Algae 50, 45–56. https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.10.008
- García-Monteiro, S., Sobrino, J.A., Julien, Y., Sòria, G., Skokovic, D., 2022. Surface Temperature trends in the Mediterranean Sea from MODIS data during years 2003–2019. Reg. Stud. Mar. Sci. 49, 102086. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.102086
- Gémin, M.-P., Bertrand, S., Séchet, V., Amzil, Z., Réveillon, D., 2021. Combined effects of temperature and light intensity on growth, metabolome and ovatoxin content of a Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* strain. Harmful Algae 106, 102060. https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.102060
- Gémin, M.P., Réveillon, D., Hervé, F., Pavaux, A.S., Tharaud, M., Séchet, V., Bertrand, S., Lemée, R., Amzil, Z., 2020. Toxin content of *Ostreopsis* cf. *ovata* depends on bloom phases, depth and macroalgal substrate in the NW Mediterranean Sea. Harmful Algae. https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101727
- GEOHAB, 2012. GEOHAB Core Research Project: HABs in Benthic Systems 64.
- Gobler, C.J., Doherty, O.M., Hattenrath-Lehmann, T.K., Griffith, A.W., Kang, Y., Litaker, R.W., 2017. Ocean warming since 1982 has expanded the niche of toxic algal blooms in the North Atlantic and North Pacific oceans. Proc. Natl. Acad. Sci. 114, 4975–4980. https://doi.org/10.1073/pnas.1619575114
- Gómez, F., Qiu, D., Lopes, R.M., Lin, S., 2015. Fukuyoa paulensis gen. et sp. nov., a New Genus for the Globular Species of the Dinoflagellate Gambierdiscus (Dinophyceae). PLoS One 10, e0119676. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119676
- Gonzalez-Rodriguez, E., Valentin, J.L., André, D.L., Jacob, S.A., 1992. Upwelling and downwelling at Cabo Frio (Brazil): comparison of biomass and primary production responses. J. Plankton Res. 14, 289–306. https://doi.org/10.1093/plankt/14.2.289
- Granéli, E., Ferreira, C., Yasumoto, T., Rodrigues, E., Neves, M., 2002. Sea urchins poisoning by the benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata* on the Brazilian Coast.
- Granéli, E., Vidyarathna, N.K., Funari, E., Cumaranatunga, P.R.T., Scenati, R., 2011. Can increases in temperature stimulate blooms of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*? Harmful Algae. https://doi.org/10.1016/j.hal.2010.09.002

Guimaraens, M.A. de, Coutinho, R., 2000. Temporal and spatial variation of Ulva spp.

and water properties in the Cabo Frio upwelling region of Brazil. Aquat. Bot. 66, 101–114. https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00070-4

- Guimaraens, M.A. de, Paiva, A. de M., Coutinho, R., 2005. Modeling Ulva spp. dynamics in a tropical upwelling region. Ecol. Modell. 188, 448–460. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.04.023
- Hallegraeff, G., Enevoldsen, H., Zingone, A., 2021. Global harmful algal bloom status reporting. Harmful Algae 102, 101992. https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.101992
- Hennon, G.M.M., Dyhrman, S.T., 2020. Progress and promise of omics for predicting the impacts of climate change on harmful algal blooms. Harmful Algae 91, 101587. https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.03.005
- IBGE, 2021. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
- Kützing, F.T., 1847. Diagnosen und Bemerkungen zu neuen oder kritischen Algen, 5th ed. Botanische Zeitung.
- Kuzat, N., Baricevic, A., Tankovic, M.S., Pfannkuchen, D.M., Ivancic, I., Pfannkuchen, M., 2021. A study on *Ostreopsis* cf. *ovata* along the eastern Adriatic coast. Reg. Stud. Mar. Sci. 45, 101808. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101808
- Lamouroux, J.V.F., 1816. Histoire des polypiers coralligènes flexibles, vulgairement nommés zoophytes. l'imprimerie de F. Poisson, Caen.
- Mangialajo, L., Bertolotto, R., Cattaneo-Vietti, R., Chiantore, M., Grillo, C., Lemee, R.,
  Melchiorre, N., Moretto, P., Povero, P., Ruggieri, N., 2008. The toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*: Quantification of proliferation along the coastline of Genoa, Italy. Mar. Pollut. Bull. 56, 1209–1214. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.02.028
- Mangialajo, L., Ganzin, N., Accoroni, S., Asnaghi, V., Blanfuné, A., Cabrini, M., Cattaneo-Vietti, R., Chavanon, F., Chiantore, M., Cohu, S., Costa, E., Fornasaro, D., Grossel, H., Marco-Miralles, F., Masó, M., Reñé, A., Rossi, A.M., Sala, M.M., Thibaut, T., Totti, C., Vila, M., Lemée, R., 2011. Trends in *Ostreopsis* proliferation along the Northern Mediterranean coasts. Toxicon 57, 408–420. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.11.019
- Mebs, D., 1998. Occurrence and sequestration of toxins in food chains. Toxicon 36, 1519–1522. https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00143-3
- Meroni, L., Chiantore, M., Petrillo, M., Asnaghi, V., 2018. Habitat effects on Ostreopsis cf. ovata bloom dynamics. Harmful Algae 80, 64–71. https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.09.006

- Migliaccio, O., Castellano, I., Di Cioccio, D., Tedeschi, G., Negri, A., Cirino, P., Romano, G., Zingone, A., Palumbo, A., 2016. Subtle reproductive impairment through nitric oxide-mediated mechanisms in sea urchins from an area affected by harmful algal blooms. Sci. Rep. 6, 26086. https://doi.org/10.1038/srep26086
- Monteiro, P.O., 2007. Ocorrência dos dinoflagelados epífitos *Ostreopsis* spp; e *Prorocentrum lima* (Dinophyta) na costa do Rio de Janeiro entre os municípios de Arraial do Cabo e Rio das Ostras; 2007 uenf. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Motta, A., Terra, R., 2011. Esporte, lazer e políticas públicas na Região dos Lagos. Ventura 102.
- Nascimento, S.M., Corrêa, E. V, Menezes, M., Varela, D., Paredes, J., Morris, S., 2012a. Growth and toxin profile of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) from Rio de Janeiro, Brazil. Harmful Algae 13, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.09.008
- Nascimento, S.M., França, J.V., Gonçalves, J.E.A.A., Ferreira, C.E.L.L., 2012b. Ostreopsis cf. ovata (Dinophyta) bloom in an equatorial island of the Atlantic Ocean. Mar. Pollut. Bull. 64, 1074–1078. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.03.015
- Nascimento, S.M., Neves, R.A.F., De'Carli, G.A.L., Borsato, G.T., Silva, R.A.F. da, Melo, G.A., Morais, A.M. de, Cockell, T.C., Fraga, S., Menezes-Salgueiro, A.D., Mafra, L.L., Hess, P., Salgueiro, F., 2020. *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae) Molecular Phylogeny, Morphology, and Detection of Ovatoxins in Strains and Field Samples from Brazil. Toxins (Basel). 12, 70. https://doi.org/10.3390/TOXINS12020070
- Neves, R.A.F., Contins, M., Nascimento, S.M., 2018. Effects of the toxic benthic dinoflagellate Ostreopsis cf. ovata on fertilization and early development of the sea urchin Lytechinus variegatus. Mar. Environ. Res. 135, 11–17. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.01.014
- Ninčević Gladan, Ž., Arapov, J., Casabianca, S., Penna, A., Honsell, G., Brovedani, V., Pelin, M., Tartaglione, L., Sosa, S., Dell'Aversano, C., Tubaro, A., Žuljević, A., Grbec, B., Čavar, M., Bužančić, M., Bakrač, A., Skejić, S., 2019. Massive Occurrence of the Harmful Benthic Dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in the Eastern Adriatic Sea. Toxins (Basel). 11, 300. https://doi.org/10.3390/toxins11050300
- Norris, D., Bomber, J., Balech, E., 1985. Benthic dinoflagellates associated with

ciguatera from the Florida Keys. I. *Ostreopsis heptagona* sp. nov. Toxic Dinoflag. 39–44.

- Onuma, Y., Satake, M., Ukena, T., Roux, J., Chanteau, S., Rasolofonirina, N., Ratsimaloto, M., Naoki, H., Yasumoto, T., 1999. Identification of putative palytoxin as the cause of clupeotoxism. Toxicon 37, 55–65. https://doi.org/10.1016/s0041-0101(98)00133-0
- Papenfuss, G.F., 1968. Notes on South African marine algae. Journal of South African Botany.
- Parsons, M.L., Preskitt, L.B., 2007. A survey of epiphytic dinoflagellates from the coastal waters of the island of Hawai'i. Harmful Algae. https://doi.org/10.1016/j.hal.2007.01.001
- Pavaux, A.-S., Berdalet, E., Lemée, R., 2020. Chemical Ecology of the Benthic Dinoflagellate Genus Ostreopsis: Review of Progress and Future Directions. Front. Mar. Sci. 7. https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00498
- Pfannkuchen, M., Godrijan, J., Marić Pfannkuchen, D., Iveša, L., Kružić, P., Ciminiello,
  P., Dell'Aversano, C., Dello Iacovo, E., Fattorusso, E., Forino, M., Tartaglione, L.,
  Godrijan, M., 2012. Toxin-producing *Ostreopsis* cf. *ovata* are likely to bloom
  undetected along Coastal Areas. Environ. Sci. Technol.
  https://doi.org/10.1021/es300189h
- Quod, J.P., 1994. Ostreopsis mascarenensis sp. nov (Dinophyceae) dinoflagellé toxique associéà la ciguatéra dans l'Océan Indien. Cryptogam. Algol. 15, 243–251.
- Scalco, E., Brunet, C., Marino, F., Rossi, R., Soprano, V., Zingone, A., Montresor, M., 2012. Growth and toxicity responses of Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* to seasonal irradiance and temperature conditions. Harmful Algae 17, 25–34. https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.02.008
- Schmidt, J., 1901. Flora of Koh Chang. Contributions to the knowledge of the vegetation in the Gulf of Siam. Bot. Tidsskr. 24, 212–221. https://doi.org/10.5962/bhl.title.55188
- Schnetter, R., Hörnig, I., Weber-Peukert, G., 1987. Taxonomy of some North Atlantic Dictyota species (Phaeophyta). Hydrobiologia 151–152, 193–197. https://doi.org/10.1007/BF00046127
- Shears, N.T., Ross, P.M., 2009. Blooms of benthic dinoflagellates of the genus Ostreopsis; an increasing and ecologically important phenomenon on temperate reefs in New Zealand and worldwide. Harmful Algae 8, 916–925.

https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hal.2009.05.003

- Silva, R.A.F. da, Ferreira, C.E.L., Nascimento, S.M., 2021. Florações de Ostreopsis cf. ovata e impactos sobre ouriços-do-mar em Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, in: 2° Encontro Recifal Brasileiro.
- Souza, A.C.M. de S., 2010. Dinoflagelados epi-bentônicos: estratura da comunidade no litoral dos estados do Rio de Janeiro e Pernambuco. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Souza, D.A., Zanette, G.B., Neves, M.H.C.B., Schramm, M.A., Proença, L.A.O., Oliveira, M.M., 2015. Cultivo de Moluscos Bivalves: Algas Nocivas e Bases para Programa de Monitoramento de Ficotoxinas em Fazenda de Maricultura de Arraial do Cabo, RJ. Bol. do Obs. Ambient. Alberto Ribeiro Lamego 9, 119–139. https://doi.org/10.19180/2177-4560.v9n115-07
- Tester, P.A., Litaker, R.W., Berdalet, E., 2020. Climate change and harmful benthic microalgae. Harmful Algae 91, 101655. https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101655
- Tibiriçá, C.E.J.A., Leite, I.P., Batista, T.V. V., Fernandes, L.F., Chomérat, N., Herve,
  F., Hess, P., Mafra, L.L., 2019. *Ostreopsis* cf. *ovata* Bloom in Currais, Brazil:
  Phylogeny, Toxin Profile and Contamination of Mussels and Marine Plastic Litter.
  Toxins (Basel). 11, 446. https://doi.org/10.3390/toxins11080446
- Tichadou, L., Glaizal, M., Armengaud, A., Grossel, H., Lemée, R., Kantin, R., Lasalle, J.-L., Drouet, G., Rambaud, L., Malfait, P., de Haro, L., 2010. Health impact of unicellular algae of the *Ostreopsis* genus blooms in the Mediterranean Sea: experience of the French Mediterranean coast surveillance network from 2006 to 2009. Clin. Toxicol. 48, 839–844. https://doi.org/10.3109/15563650.2010.513687
- Totti, C., Accoroni, S., Cerino, F., Cucchiari, E., Romagnoli, T., 2010. Ostreopsis ovata bloom along the Conero Riviera (northern Adriatic Sea): Relationships with environmental conditions and substrata. Harmful Algae 9, 233–239. https://doi.org/10.1016/j.hal.2009.10.006
- Ungano, N., Assennato, G., Blonda, M., Cudillo, B., Petruzzelli, M.R., Mariani, M., Pastorelli, A.M., Aliquò, M.R., D'Angela, A., Aiello, C., Ranieri, S., 2010. Occurrence of the potentially toxic dinoflagellate ostreopsis ovata along the apulian coastal areas (Southern Italy) and relationship with anthropogenic pollution. Fresenius Environ. Bull. 19.
- Verma, A., Hoppenrath, M., Dorantes-Aranda, J.J., Harwood, D.T., Murray, S.A., 2016. Molecular and phylogenetic characterization of *Ostreopsis* (Dinophyceae) and the

description of a new species, *Ostreopsis rhodesae* sp. nov., from a subtropical Australian lagoon. Harmful Algae 60, 116–130. https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.11.004

Wells, M.L., Trainer, V.L., Smayda, T.J., Karlson, B.S.O., Trick, C.G., Kudela, R.M., Ishikawa, A., Bernard, S., Wulff, A., Anderson, D.M., Cochlan, W.P., 2015.
Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. Harmful Algae 49, 68–93. https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.07.009