



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - UNIRIO  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - IBIO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PPG BIO  
MESTRADO EM BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL



**DISTRIBUIÇÃO E ABUNDÂNCIA DE DINOFLAGELADOS EPI-  
BENTÔNICOS NA COSTA NORDESTE DO BRASIL**

Aluno: Gabriela de Abreu e Lima De'Carli

Rio de Janeiro

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - UNIRIO  
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - IBIO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PPG BIO  
MESTRADO EM BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL



Gabriela de Abreu e Lima De´Carli

**DISTRIBUIÇÃO E ABUNDÂNCIA DE DINOFLAGELADOS EPI-  
BENTÔNICOS NA COSTA NORDESTE DO BRASIL**

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 parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dr. Silvia Mattos Nascimento

Rio de Janeiro

2014

De'Carli, Gabriela de Abreu e Lima.  
D291 Distribuição e abundância de dinoflagelados epi-bentônicos na costa  
Nordeste do Brasil / Gabriela de Abreu e Lima De'Carli, 2014.  
41 f. ; 30 cm

Orientadora: Silvia Mattos Nascimento.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal  
do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

1. Dinoflagelados. 2. Epi-bentônicos - Brasil. Nordeste. 3. *Ostreopsis*.  
4. *Prorocentrum*. 5. *Gambierdiscus*. 6. *Coolia*. 7. *Amphidinium*.  
8. *Sinophysis*. I. Nascimento, Silvia Mattos. II. Universidade Federal  
do Estado do Rio de Janeiro. Centro de Ciências Biológicas e de Saúde. Curso  
de Mestrado em Ciências Biológicas. III. Título.

CDD – 579.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - UNIRIO  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - IBIO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PPGBIO  
MESTRADO EM BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL



“DISTRIBUIÇÃO E ABUNDÂNCIA DE DINOFLAGELADOS EPI-BENTÔNICOS  
NA COSTA NORDESTE DO BRASIL”

por

Gabriela de Abreu e Lima De'Carli

Dissertação de Mestrado

Banca Examinadora

*Silvia M. Nascimento*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Mattos Nascimento (Orientadora)

*Mariângela Menezes*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mariângela Menezes

*Joel Campos de Paula*

Prof. Dr. Joel Campos de Paula

Conceito: \_\_\_\_\_

*B*

NOVEMBRO DE 2014

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho a meu querido avô Gileno De'Carli Filho, que com sua curiosidade me motivava a sempre querer aprender mais.

## **Agradecimento**

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus familiares que sempre me incentivaram na luta pela realização dos sonhos, cada um do seu jeito. Meus pais Gileno e Paula por sempre apoiarem as minhas decisões e me motivaram a nunca desistir, por maiores que fossem os obstáculos. Aos meus avôs paternos Gileno e Helena, meu irmão Gileno, minha cunhada Letícia, meus primos Rebeca, André, José Carlos, minhas tias Thelma, Carla e Taciana que foram sempre presentes e me ajudaram a recarregar as energias. Meus avôs maternos Lucio e Célia que apesar da distância sempre arrumavam um jeito de estar perto. Meus avôs emprestados Ana Maria, José Roberto e meus irmãos de coração Ana Tereza, Ladislau e Viviane que me deram abrigo e apoio durante esta jornada.

A minha orientadora querida Silvia Mattos Nascimento, que acreditou em mim e me ensinou a fazer ciência com seriedade e ética. Ao professor Joel Campos de Paula que mesmo não me conhecendo, me recebeu de braços abertos na viagem para coleta dos dados (onde passamos 20 dias no nordeste) e assim surgiu uma boa amizade. A professora Mariângela Menezes que com uma milagrosa bolsa proporcionou a realização do mestrado. Ao CNPQ pela bolsa de mestrado do projeto Protax 52/2010, número de processo 562283/2010-8.

Os meus colegas de mestrado e amigos Rodolfo Giordano, Aline, Viviane, Juliana, Bruna, Vanessa e Izidro que juntos dividimos as conquistas, angústias e nos apoiamos quando surgia um obstáculo. Meus amigos barrenses Milene, Thiago, Debora e Rodolfo Pena que entenderam que a distância e ausência era precisa e me apoiaram e incentivaram.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram a conquistar mais esse sonho, que sozinha não conseguiria realizar, obrigada!

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver.”

*Dalai lama*

## Apresentação

As microalgas marinhas são alimentos fundamentais de moluscos bivalves filtradores (ostras, mexilhões, vieiras, mariscos), assim como das larvas de crustáceos e peixes ósseos comercialmente importantes (Hallegraeff, 2002). Contudo, em algumas situações, a proliferação destas microalgas pode ter efeito negativo, causando perdas econômicas para a aquicultura, pesca e turismo e ter grandes impactos sobre a saúde humana e ambiental (Hallegraeff, 2002).

Os dinoflagelados são organismos eucariotos cujas células móveis possuem dois flagelos desiguais, um transversal e outro longitudinal, que emergem de dois poros distintos (Fensome, 1993). Metade das espécies de dinoflagelados são fotossintéticas, mas o grupo inclui também organismos mixotróficos, fagotróficos, simbiontes e parasitas (Fensome, 1993). Os dinoflagelados são componentes do fitoplâncton e fitobentos marinho e, portanto importantes produtores primários; eles também ocorrem em ambientes de água doce, neve e areia (Fensome, 1993; Taylor, 1987).

Entre as 5000 espécies de fitoplâncton marinho existente, cerca de 300 espécies podem ocasionalmente ocorrer em elevadas abundâncias que podem descolorir a superfície do mar (Hallegraeff, 2002). Aproximadamente 80 espécies têm a capacidade de produzir potentes toxinas que quando acumuladas em moluscos ou peixes podem causar envenenamento paralisante, diarréico, neurotóxico, amnésico e ciguatera (Hallegraeff, 2002).

A ciguatera é uma doença de origem alimentar que afeta os seres humanos, os recursos marinhos e a economia ao redor do mundo (GEOHAB, 2012). A doença é transmitida pelo consumo de peixes recifais contendo as toxinas conhecidas como ciguatoxinas (CTXS). Estas toxinas são produzidas por espécies de dinoflagelado epi-bentônico do gênero *Gambierdiscus*, que são encontradas predominantemente em associação com algas nos recifes de coral em águas tropicais, (GEOHAB, 2012). As



ciguatoxinas são lipossolúveis e transferidas através da rede trófica para peixes herbívoros, carnívoros e finalmente, para os seres humanos (GEOHAB, 2012).

Nos últimos anos as florações de dinoflagelados epi-bentônicos parecem estar afetando uma área maior do planeta. Exemplos incluem o gênero *Ostreopsis* ao longo do Mar Mediterrâneo, costa da Austrália e do Japão e recentes registros de *Gambierdiscus* na Micronésia, Macaronésia, Mar Mediterrâneo (GEOHAB, 2012) e Brasil (Mendes et al., 2012). A intensidade das florações também parece ter aumentado e em alguns lugares os eventos tem atraído a atenção do público para este fenômeno (GEOHAB, 2012). O impacto dessas florações tem sido observado em locais como o Mar Mediterrâneo, onde a fauna bentônica foi visivelmente prejudicada durante uma floração de *Ostreopsis* cf. *ovata* no mar Tirreno; enquanto que no mar da Ligúria 200 pessoas foram hospitalizadas em 2003 devido a problemas de saúde relacionados a floração de *O. cf. ovata* (GEOHAB, 2012).

A costa nordeste do Brasil é caracterizada por condições ambientais que de acordo com a literatura são consideradas favoráveis ao desenvolvimento de elevadas densidades de dinoflagelados epi-bentônicos. Contudo, existem poucas informações sobre a assembléia de dinoflagelados epi-bentônicos nessa região, havendo apenas algumas descrições pontuais. Praticamente não há dados sobre (i) quais espécies ocorrem na região; (ii) sua densidade e (iii) se desenvolvem eventos de floração e sob quais condições ambientais. Dessa forma, este estudo visa reduzir a lacuna do conhecimento sobre os dinoflagelados epi-bentônicos. Considerando que são espécies que produzem toxinas que podem vir a contaminar o homem e os organismos marinhos, a caracterização dessa assembleia torna-se ainda mais relevante.

# **Distribuição e Abundância de dinoflagelados epi-bentônicos na costa Nordeste do Brasil**

<sup>1,2</sup>Gabriela de Abreu e Lima De´Carli, <sup>1,2</sup>Joel Campos de Paula, <sup>1</sup>Guilherme Melo, <sup>1,2</sup>Fabiano Salgueiro, <sup>3</sup>Mariângela Menezes, <sup>1,2</sup>Silvia Mattos Nascimento\*.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Av. Pasteur, 458, 22.290-240, Rio de Janeiro, RJ, Brazil ([silvia.nascimento@gmail.com](mailto:silvia.nascimento@gmail.com)), telephone: 55 21 22445483

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical)

<sup>3</sup>Laboratório de Ficologia, Museu Nacional, UFRJ 20940-040 Rio de Janeiro, Brazil

\*Corresponding author

## Abstract

Epi-benthic dinoflagellates of the genera *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Coolia* and *Amphidinium* occur in tropical, subtropical and temperate regions of the world. In the last two decades the occurrence of these genera have also been reported in temperate regions, where *Ostreopsis* bloom. In this study the pattern of distribution and abundance of these genera were studied in seven sampling stations along the northeast coast of Brazil. Five stations were sampled in July 2012 (winter) and two in January 2013 (summer). The morphology and phylogeny of the species complex *O. cf. ovata* were studied in one of the sampling stations. *Ostreopsis* and *Prorocentrum* were the more abundant genera. Higher abundances were found in the summer, when *O. cf. ovata* reached maximum abundance of 53659 cells.gPU *Canistrocarpus crispatus*<sup>-1</sup> and *P. lima* 16297 cells.gPU *Padina boergesenii*<sup>-1</sup>. High *Gambierdiscus* abundance (1186 cells.gPU *Dictyota*<sup>-1</sup>) was found at one station, while abundances were below 80 cells.gPU<sup>-1</sup> at the remaining stations. *Amphidinium*, *Coolia* and *Sinophysis* were observed at low abundances. The dorsal-ventral diameter of *O. cf. ovata* varied between 28 and 85 µm, transdiameter between 13 and 63 µm and the anteroposterior diameter between 11 and 39 µm. Molecular analysis showed that cells belong to the *O. cf. ovata* subclade Mediterranean, Atlantic and Eastern Pacific. The abundance of *Gambierdiscus* and *Ostreopsis* at some stations raises the possibility of people and marine fauna exposure to the deleterious effects of their toxins, particularly in the summer.

Keywords: Dinoflagellates; epi-benthic, *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Coolia*, *Amphidinium*, *Sinophysis*.

## Resumo

A assembleia de dinoflagelados epi-bentônicos inclui os gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Coolia*, *Amphidinium*, entre outros e apresenta distribuição tropical e subtropical. Nas últimas duas décadas a ocorrência desses gêneros tem sido reportada também em regiões temperadas, onde florações de *Ostreopsis* se tornaram recorrentes. Neste estudo o padrão de distribuição e a abundância desses gêneros foram estudados em sete sítios de amostragem ao longo da costa nordeste do Brasil. Cinco sítios foram amostrados em Julho de 2012 (inverno) e dois em janeiro de 2013 (verão). A morfologia e filogenia do complexo de espécies *O. cf. ovata* foram estudados em um dos sítios de amostragem. Os gêneros *Ostreopsis* e *Prorocentrum* foram de forma geral dominantes. As abundâncias foram mais elevadas em Jan/13, quando *O. cf. ovata* atingiu abundância máxima de 53659 céls.g PU *Canistrocarpus crispatus*<sup>-1</sup> e *P. lima* de 16297 céls.gPU *Padina boergesenii*<sup>-1</sup>. Alta abundância de *Gambierdiscus* (1186 céls.gPU *Dictyota*<sup>-1</sup>) foi encontrada em um sítio de amostragem, enquanto abundâncias inferiores a 80 céls.gPU<sup>-1</sup> foram registradas nos demais. Os gêneros *Amphidinium*, *Coolia* e *Sinophysis* foram observados em menores densidades. O diâmetro dorso-ventral de *O. cf. ovata* variou entre 28 e 85 µm, o transdiâmetro entre 13 e 63 µm e o diâmetro antero-posterior entre 11 e 39 µm. Análise molecular mostrou que as células do sítio 6 pertencem ao clado *O. cf. ovata* subclado Mediterrâneo, Atlântico e leste do Pacífico. As abundâncias dos gêneros *Ostreopsis* e *Gambierdiscus* em alguns sítios sugerem a possível exposição de pessoas e da fauna marinha aos efeitos deletérios de suas toxinas particularmente no verão.

Palavras-chaves: Dinoflagelados; epi-bentônicos, *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Coolia*, *Amphidinium*, *Sinophysis*.

## 1. Introdução

Os dinoflagelados epi-bentônicos estão geralmente associados à macroalgas, recifes de coral, areia, lama e detritos (Tindall e Morton, 1998). A distribuição dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum* e *Coolia* abrange amplamente os trópicos até as áreas temperadas (Shears e Ross, 2009; Aligizaki e Nikolaidis, 2006; Parsons et al., 2012; Selina et al., 2014; Moreira et al., 2012; Nascimento et al., 2012a).

Os dinoflagelados epi-bentônicos dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Coolia* e *Amphidinium* podem produzir uma variedade de toxinas com efeitos nocivos sobre outros organismos marinhos e a saúde humana (Laza-Martinez et al., 2011). Dentre essas toxinas estão as ovatoxinas (-a,-b,-c,-d,-e) que são análogos da palytoxina, ostreocina-d e mascarenotoxina -a e -b e são produzidas por espécies de *Ostreopsis* (Parsons et al., 2012). O gênero *Gambierdiscus* produz as ciguatoxinas que causam a doença ciguatera (Litaker et al., 2010). As espécies bentônicas de *Prorocentrum* produzem toxinas diarréicas como o ácido ocadáico e as dinofisistoxinas (Hoppenrath et al., 2013).

Segundo Litaker et al. (2010) qualquer habitat em águas rasas (<50 m) em que a temperatura anual da água varie entre 21° e 31°C, com presença de macroalgas abundante, turbulência baixa a moderada, salinidade alta e estável, níveis de irradiação atenuados à moderados (<10% da irradiação incidente) são favoráveis a ocorrência de *Gambierdiscus*. As mesmas condições ambientais podem ser citadas como favoráveis para a ocorrência de densidades elevadas do gênero *Ostreopsis* (Parsons et al, 2012).

Florações de *O. cf. ovata* tem sido relatadas recentemente em regiões tropicais e temperadas (Vila et al., 2001; Aligizaki e Nikolaidis, 2006; Mangialajo et al., 2011; Rhodes, 2010; Parsons et al., 2012). Ao longo da costa do Mediterrâneo, *O. cf. ovata* prolifera em águas rasas e abrigadas, formando um filme mucilaginoso que cobre recifes, rochas, sedimentos não consolidados, algas, angiospermas marinhas e

invertebrados (Vila et al., 2001; Aligizaki e Nikolaidis, 2006; Totti et al., 2010; Accoroni et al., 2011). No Mar Mediterrâneo tem sido relatada intoxicação de banhistas e pessoas expostas ao aerossol marinho durante eventos de floração de *O.cf. ovata* (Ciminiello et al., 2006). No verão de 2005 cerca de 200 pessoas apresentaram sintomas como rinorréia, tosse, febre, broncoespasmo com dispneia leve e chiado e a morte de invertebrados bentônicos foram relatados (Ciminiello et al., 2006).

No Brasil, no Rio de Janeiro floração de *O. cf. ovata* foi registrada pela primeira vez no verão de 1998 em Arraial do Cabo, quando um filme marrom cobriu uma extensa área do costão e em 2001 um novo evento foi registrado (Granéli et al., 2002; Ferreira, 2006). A população de ouriços do mar (*Echinometra lucunter*) em contato prolongado com o filme apresentou uma diminuição na densidade nos dois eventos de floração (Granéli et al., 2002; Ferreira, 2006). Mortandade de ouriços do mar (*Evechinus chloroticus*) também foi observada durante uma floração de *O. cf. siamensis* na Nova Zelândia (Shears e Ross, 2009). Florações de *O. cf. ovata* também foram observadas em 2006 e 2007 em Arraial do Cabo e Armação dos Búzios no Rio de Janeiro (Nascimento et al., 2010) e em 2009 no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (Nascimento et al., 2012a).

No litoral sul da Bahia durante o verão de 2008, mais de 10.000 pessoas sofreram intoxicação com sintomas como dor de garganta, dor de cabeça, febre, tosse, rinorréia entre outros. Apesar dos sintomas serem similares aos observados em pessoas expostas à floração de *O. cf. ovata* no Mar Mediterrâneo, as abundâncias de *O. cf. ovata* foram baixas e não foi possível estabelecer uma ligação entre sua ocorrência e a intoxicação (Proença et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a distribuição e abundância dos gêneros que compõem a assembleia de dinoflagelados epi-bentônicos ao longo da costa

nordeste do Brasil. Ênfase especial foi dada ao complexo de espécies *Ostreopsis* cf. *ovata*, agregando dados moleculares ao estudo morfológico.

## **2. Metodologia**

### **2.1 Área de estudo e estratégia amostral**

Ao longo de 836 km de linha de costa da região tropical no sudoeste do Oceano Atlântico, 81 amostras de macroalgas foram coletadas em sete sítios de amostragem (Figura 1). As coletas foram realizadas em dois momentos distintos: entre 13 e 25 de julho de 2012, quando foram amostrados os sítios 1 (Penha), 2 (Placafor), 3 (Muro Alto) e 4 (Garça Torta) e entre 23 e 31 de janeiro de 2013 quando os sítios 5 (Forte) e 6 (Porto de Galinhas) foram visitados (Tabela 1).

A escolha das praias foi feita considerando-se a facilidade de acesso. Recifes de arenito estavam presentes na maioria das estações estudadas cobrindo uma grande extensão da praia, proporcionando um ambiente com alta diversidade de macroalgas pardas (*Canistrocarpus* spp., *Dictyota* spp., *Sargassum* spp., *Padina boergesenii*) e vermelhas (*Gracilaria* spp., *Hypnea musciformis*, *Amphiroa brasiliense*).

Em cada um dos sítios foram coletadas amostras de macroalgas por mergulho livre, em profundidades variando entre 1 e 2 metros. As macroalgas foram retiradas de seus substratos utilizando sacos plásticos tipo zip-lock com a água do mar adjacente. Sempre que possível três indivíduos de cada espécie de macroalga foram coletados. Em seguida, cada saco plástico foi agitado manualmente durante dois minutos a fim de separar os organismos epífitos. As soluções contendo microalgas epífitas foram fixadas com lugol neutro a 1% para posterior contagem e identificação dos dinoflagelados epibentônicos. As macroalgas foram preservadas com formol 4% para posterior identificação e determinação do peso úmido.

A salinidade e a temperatura da água do mar foram medidas com uso de uma sonda WTW no momento da amostragem, excetuando-se nos sítios 5 e 6.

## 2.2 Quantificação dos dinoflagelados epi-bentônicos

Os dinoflagelados dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Coolia*, *Amphidinium* e *Sinophysis* foram enumerados em nível de gênero ou espécie no caso de *Ostreopsis* e *Prorocentrum*. Os gêneros foram identificados com base na morfologia das células.

No laboratório, o volume das amostras de suspensão de microalgas epífitas foi medido usando uma proveta. As amostras foram posteriormente filtradas utilizando malhas de 255 µm e 125 µm a fim de retirar detritos e areia. Os dinoflagelados epífitos foram quantificados em câmaras de sedimentação de 2.5, 5 ou 10 mL (Utermohl, 1958). As amostras com maiores abundâncias de dinoflagelados epi-bentônicos foram quantificadas utilizando câmara de Sedgewick-rafter. A contagem foi feita em microscópio ótico invertido (Axiovert, Zeiss) sob aumento de 200x e toda a área da câmara foi observada.

As macroalgas foram identificadas e pesadas em balança digital (Marte AY220) para determinação do peso úmido. A densidade de células de dinoflagelados epífitos foi calculada por grama de peso úmido de macroalga (céls.g PU macroalga<sup>-1</sup>), como mostra a equação a seguir:

$$\frac{((N^{\circ} \text{ de células contadas} \div \text{ vol. sedimentado}) \times \text{ vol. da amostra})}{\text{Peso Úmido de macroalga (PU)}}.$$



### 2.3 Morfometria e identificação molecular de *Ostreopsis*

O diâmetro dorso-ventral (DV) e o transdiâmetro (W) de espécimes de *Ostreopsis* presentes nos sítios 1 e 5 foram medidos e o diâmetro antero-posterior (AP) foi medido apenas no sítio 5. As células foram clarificadas usando cloro, fotografadas e medidas em microscópio ótico invertido no aumento de 400x usando o programa Axiovision (Zeiss). As células de *Ostreopsis* foram quantificadas separadamente com base nas suas dimensões em *O. cf. ovata* < 40µm (DV < 40µm), *O. cf. ovata* (DV entre 40 e 60 µm), *O. cf. ovata* > 60 µm (DV > 60 µm). O arranjo das placas tecais foi visualizado em microscópio de fluorescência (AxioImager A2, Zeiss) usando o fluorocromo Fluorescent Brightener 28 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

A análise molecular foi feita com o objetivo de confirmar a identificação taxonômica das células de *Ostreopsis* do sítio 5. Para a extração do DNA total de células fixadas em lugol, uma única célula de cada um dos morfotipos *Ostreopsis cf. ovata* < 40µm (n=12), *O. cf. ovata* (40 – 60µm, n=24), *O. cf. ovata* > 60µm (n=8) foi isolada. Cada célula foi lavada com água do mar filtrada em filtro de fibra de vidro Millipore, sendo transferida sucessivamente com o auxílio de uma micropipeta de vidro sob observação em microscópio ótico. Ao final deste procedimento cada célula foi transferida para um microtubo de 0.5 mL. Cada célula foi submetida a um protocolo de indução do rompimento da membrana celular por choque térmico. Para isso, os microtubos contendo as células isoladas foram imersos em um banho de nitrogênio líquido durante 1 minuto e, em seguida, em outro banho-maria em temperatura de 95°C por mais 1 minuto. Esse procedimento foi repetido três vezes. O DNA extraído foi utilizado imediatamente no procedimento de reação em cadeia da polimerase (PCR).

O gene 5.8S rDNA e as regiões ITS1 e ITS2 (“Internal Transcribed Spacer”) foram amplificadas usando os pares de primers ITSA/ITSB (5’-GTAACAAGGTHTCCTAGGT-3’/5’-AKATGCTTAARTTCAGCRGG-3’) (Sato et

al., 2011; Adachi et al., 1994). As misturas para amplificação (50 µL) continham 1U Taq DNA polymerase (ThermoScientific), 1x Tampão de reação com NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4 µg de BSA (Bovine Serum Albumine), 0.16 mM dNTP's e 16 pmol de cada primer. A reação de PCR foi conduzida em um termociclador nas seguintes condições: um passo inicial de aquecimento de 5 min a 95°C, seguido por 45 ciclos: 95°C por 1 min, 45°C por 1 min, 72°C for 1 min; e uma etapa final a 72°C por 5 min. Uma alíquota de 5 µL de cada produto da PCR foi analisada por eletroforese em gel de agarose a 1,0% corado com GelRed (Biotium). Os produtos amplificados foram enviados para sequenciamento na MacroGen ([www.macrogen.com](http://www.macrogen.com)) em um analisador de DNA automático (ABI PRISM 3700 DNA analyzer (PE Applied Biosystems, Forster City, CA, USA)).

As sequências obtidas para cada amostra foram alinhadas utilizando-se o algoritmo ClustalW (Larkin et al., 2007) disponível no programa MEGA6 (Tamura et al., 2013). A qualidade dos alinhamentos obtidos foi verificada manualmente para evitar artefatos introduzidos pelo programa. As sequências obtidas foram comparadas com outras sequências disponíveis no banco de dados Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Em seguida foram realizadas reconstruções filogenéticas empregando o método de Máximo Likelihood (ML) disponível no programa MEGA6 (Tamura et al., 2013) de acordo com os parâmetros descritos por Sato et al. (2011).

### 3. Resultados

#### 3.1 Distribuição, composição e abundância da assembléia de dinoflagelados epi-bentônicos

Os gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Amphidinium*, *Coolia* e *Sinophysis* foram observados associados às macroalgas pardas e vermelhas (Fig 2) nos sítios estudados. Em geral, *Ostreopsis* apresentou as maiores densidades, seguido de *Prorocentrum* (Figura 2).

Os gêneros *Ostreopsis* e *Prorocentrum* foram encontrados em todos os sítios amostrados, enquanto *Gambierdiscus* foi encontrado apenas nos sítios 1, 2, 5 e 6 (Figura 2). Os gêneros *Coolia* e *Amphidinium* estiveram presentes em todos os sítios estudados excetuando o sítio 3 e 1, respectivamente. O gênero *Sinophysis* foi observado apenas nos sítios 1, 5, e 6.

Os valores mais elevados das abundâncias de dinoflagelados epi-bentônicos foram de 1105 céls.gPU *Gracilaria mammillaris*<sup>-1</sup> no sitio 1 em jul/12 e 57561 céls.gPU *Canistrocarpus crispatus*<sup>-1</sup> no sitio 5 em jan/13 (Tabela 2 e 3).

A abundância mais alta de *Ostreopsis* em jul/12 foi de 977 céls.gPU *Gracilaria mammillaris*<sup>-1</sup> no sitio 1 (Tabela 2). Enquanto que em jan/13 a maior abundância deste gênero foi de 55610 céls.gPU *Canistrocarpus crispatus*<sup>-1</sup> no sitio 5, quando este gênero representou 77% da densidade total de dinoflagelados epífitos (Tabela 3). Apesar da elevada abundância de *Ostreopsis* no sitio 5, nenhum biofilme foi observado cobrindo as macroalgas.

Todas as células de *Ostreopsis* foram identificadas como *O. cf. ovata* com base na sua morfologia e dimensões. *Ostreopsis cf. ovata* com DV entre 40 e 60 µm foi encontrado em todos os sítios estudados e a densidade foi sempre superior às demais classes de tamanho, representando entre 66 e 94% da densidade total de *O. cf. ovata*, considerando todos os sítios. *Ostreopsis cf. ovata* > 60µm não foi encontrado no sítio 2,

e suas maiores abundâncias foram encontradas na amostragem de jan/13 (989 céls.gPU *Sargassum cymosum*<sup>-1</sup>). *Ostreopsis* cf. *ovata* < 40µm foi encontrado nos sítios 5 e 6 sendo a maior abundância (1707 céls.gPU *C. crispatus*<sup>-1</sup>) no sítio 5.

*Prorocentrum lima* foi a espécie mais abundante do gênero *Prorocentrum* e sua abundância variou entre 456 céls.gPU *Canistrocarpus cervicornis*<sup>-1</sup> no sítio 1 (jul/12) e 16297 céls.gPU *Padina boergesenii*<sup>-1</sup> no sítio 5 (Jan/13), considerando todos os sítios amostrados a espécie representou entre 71 e 100% da abundância total de dinoflagelados epi-bentônicos. O complexo de espécies *Prorocentrum emarginatum/fukuyoi* (Hoppenrath et al., 2013) apresentou maior abundância no sítio 6 (97 céls.gPU *Sargassum vulgare*<sup>-1</sup>) em jan/13.

A abundância do gênero *Gambierdiscus* foi baixa em de jul/12 (máxima de 80 céls.gPU *Lobophora variegata*<sup>-1</sup>, no sítio 2). A maior abundância do gênero foi registrada no sítio 6 (1186 céls.gPU *Dictyota*<sup>-1</sup>), representando 41% da densidade total de dinoflagelados epi-bentônicos nesta amostra (Tabela 3). Os gêneros *Amphidinium*, *Coolia* e *Sinophysis* foram encontrados em menores abundâncias (Figura 3). As maiores abundâncias de *Amphidinium* e *Coolia* foram registradas sobre a macroalga *Sargassum cymosum* no sítio 6 (jan/13), sendo iguais a 1277 e 247 céls.gPU<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 3). A abundância do gênero *Sinophysis* não ultrapassou 79 céls.gPU *Padina boergesenii*<sup>-1</sup> no sítio 5 (Tabela 2 e 3).

### **3.2 Morfologia e Genética de *Ostreopsis***

As células de *Ostreopsis* cf. *ovata* apresentaram forma oval ou de gota e em alguns casos as células apresentaram forma mais arredondada, sendo comprimidas no eixo antero-posterior (Figura 3). Muitos cloroplastos marrom-alaranjados foram observados.

Os diâmetros DV, W e AP apresentaram elevada variabilidade. O DV variou entre 28 e 85  $\mu\text{m}$ , W entre 13 e 63  $\mu\text{m}$ , o AP entre 11 e 39  $\mu\text{m}$  e a razão DV/W 1.2 e 2.1 (Tabela 4). O padrão das placas tecais das células de *Ostreopsis* cf. *ovata* deste estudo foi similar ao observado por Fukuyo (1981), com a fórmula das placas sendo  $Po, 3', 7'', 6C, 6S(?), 5''', 2''''$ , 1p. A superfície da teca era lisa e ornamentada com poros espalhados.

Sequências da região ITS foram obtidas para três células de *O. cf. ovata* isoladas da estação Forte que apresentavam as seguintes dimensões (DV,W), célula 1: 45, 28  $\mu\text{m}$ , célula 2: 58, 37  $\mu\text{m}$  e célula 3: 56, 44  $\mu\text{m}$ . O alinhamento final baseado na região ITS-5.8S rDNA conteve 138 sequências e incluiu 270 nucleotídeos alinhados e 198 sítios variáveis. A filogenia foi similar àquela previamente publicada para o gênero *Ostreopsis* (Sato et al., 2011, Tawong et al., 2014). A árvore apresentada (Figura 4) mostrou que o clado *O. cf. ovata* é dividido em quatro subclados: o subclado Mediterrâneo, Atlântico e leste do Pacífico (Med/Atl/Pac); o subclado do Sul do Mar da China (SCS) incluindo quatro cepas da Tailândia; o subclado de Malacca e Celebes (Mal/Cel) incluindo três cepas da Indonésia e três cepas da Malásia; e o subclado da Tailândia. Os clados correspondentes às espécies *Ostreopsis* sp. 1-7 e *O. cf. siamensis* também foram recuperados. As células do sítio 5 pertencem ao clado *O. cf. ovata* subclado Mediterrâneo, Atlântico e leste do Pacífico.

### 3.3 Habitat

A temperatura da água do mar na amostragem de jul/12 (inverno) variou entre 27.4 °C no sítio 2 e 28.9 °C no sítio 3 (Tabela 1). A salinidade variou entre 34.2 e 35.7 em sítio 1 e sítio 2, respectivamente (Tabela 1).

Os locais de coleta das amostras nos sítios 1, 3, 4 e 5 foram localizados em área protegida da ação das ondas, ou seja, de baixo hidrodinamismo. Já nos sítios 2 e 6 as macroalgas foram coletadas em locais de maior hidrodinamismo e exposição à ação das ondas.

## 4.0 Discussão

### 4.1 Composição e abundância de dinoflagelados epi-bentônicos

Este estudo documentou a presença dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, *Amphidinium*, *Coolia* e *Sinophysis* no sudoeste do Oceano Atlântico, ao longo da costa nordeste do Brasil. Os dois primeiros gêneros predominaram em abundância nessa assembleia na maioria dos sítios estudados e *Ostreopsis* cf. *ovata* foi em geral dominante.

O gênero *Ostreopsis* foi dominante na maioria dos sítios (jul/12), representando pelo menos 57% da densidade total de dinoflagelados epi-bentônicos em cada sítio, com exceção do sítio 2. Em jan/13 foi observada a dominância de *Ostreopsis* spp. de forma consistente, única exceção sendo uma amostra de *Dictyota* sp. no sítio 6, na qual foi observada elevada densidade de *Gambierdiscus* spp. O padrão de dominância de *O.* cf. *ovata* durante o verão já foi observado em estudos realizados no sudeste do Brasil (Nascimento et al., 2010), no mar Mediterrâneo (Vila et al., 2001, Aligizaki & Nikolaidis, 2006, Totti et al., 2010), no noroeste do Mar do Japão, Rússia (Selina et al., 2014), no mar do Caribe, Cuba (Moreira et al., 2012). No norte da Grande barreira de corais (Austrália) o gênero dominante foi *Prorocentrum* (Skinner et al., 2013).

A assembléia de dinoflagelados epi-bentônicos também foi representada por estes gêneros em outros estudos no sudeste do Brasil (Nascimento et al., 2012b), no Haváí (Parsons & Preskitt, 2007), no Golfo do México (Okolodkov et al., 2007), no mar Egeu, Mediterrâneo (Aligizaki & Nikolaidis, 2006), nas Ilhas Cook (Rhodes et al., 2010) e na Micronésia (Xu et al., 2014).

Diferenças na abundância de dinoflagelados epi-bentônicos foram observadas entre os sítios amostrados no inverno de 2012 e no verão de 2013, sendo que maiores abundâncias foram encontrados nos sítios visitados no verão. No inverno a abundância total não ultrapassou 1100 céls.g PU *G. mammilaris*<sup>-1</sup>, enquanto nas estações visitadas no verão valores até 58000 céls.gPU *C. crispatus*<sup>-1</sup> foram registrados. A abundância mais elevada de *O. cf. ovata* (55000 céls.gPU *C. crispatus*<sup>-1</sup>) foi observada no sítio 6 no verão, quando esta espécie representou 77% da densidade total de dinoflagelados epífitos nesta estação.

Elevadas abundâncias de *O. cf. ovata* já foram registrados na costa do Rio de Janeiro no Brasil, em Armação dos Búzios (130000 céls.gPU *S. vulgare*<sup>-1</sup> no inverno de 2006) e em Arraial do Cabo (21000 céls.gPU *S. vulgare*<sup>-1</sup> no verão de 2006) (Nascimento et al., 2010). No remoto Arquipélago de São Pedro e São Paulo a abundância de *O. cf. ovata* atingiu 46000 céls.gPU *Laurencia* sp.<sup>-1</sup> durante o inverno (Nascimento et al., 2012a). A 14 km de Placafor, na praia de Itapuã (Salvador, Bahia) Mendes et al. (2012; 2013) registrou células de *Ostreopsis* em dois momentos (outono / verão) e verificou que a abundância durante o verão (10000 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>) foi maior do que no outono (7800 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>).

No norte da costa Catalã no Mar Mediterrâneo, a abundância de *Ostreopsis* spp. no verão (590000 céls.gPU *Halopterus scoparia*<sup>-1</sup>) foi mais elevada do que no inverno (1400 céls.gPU *Halopterus scoparia*<sup>-1</sup>) em 1997 (Vila et al., 2001). Na mesma região, Mangialajo et al. (2011) registrou no verão de 2008 abundâncias de *Ostreopsis* sobre a

macroalga *Coralina elongata* atingindo 7200000 céls.gPU<sup>-1</sup>, enquanto que no outono a abundância foi de 3600000 céls.gPU<sup>-1</sup>. Na costa de Ancona (Norte do Mar Adriático, Mediterrâneo) foram observadas elevadas abundâncias de *O. cf. ovata* durante o outono (1700000 céls.gPU *Hypnea musciformis*<sup>-1</sup>) em 2008 (Totti et al., 2010) e durante o verão (1300000 céls.gPU *D. polypodioides*<sup>-1</sup>) em 2009 (Accoroni et al., 2012). No Golfo do México foram observadas 790000 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup> (Moreira et al., 2012) de *O. cf. ovata* em setembro de 2010. No Havaí a abundância de *O. cf. ovata* não ultrapassou 7300 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup> em Julho de 2001 (Parsons e Preskitt, 2007). *Ostreopsis siamensis* também foi encontrado em 1983 na Florida durante o verão com a abundância atingindo 1400 céls.gPU<sup>-1</sup> (Bomber et al., 1989).

Em regiões temperadas onde o gênero *Ostreopsis* ocorre como Nova Zelândia e Mar Mediterrâneo, o gênero foi encontrado em temperaturas que variaram entre 11.5 e 29.7 °C, mas as florações só ocorrem quando a temperatura da água atingiu 19°C no verão ou no outono (Chang et al., 2000; Vila et al., 2001; Aligizaki e Nikolaidis, 2006). Na Nova Zelândia as abundâncias de *O. cf. siamensis* atingiram 1400000 céls.gPU *Carpophyllum plumosum*<sup>-1</sup> (Shears e Ross, 2009) quando a temperatura da água foi igual a 21°C (verão). No noroeste do mar do Japão (Rússia) *Ostreopsis* spp. atingiu valores máximos de abundância de 6900000 céls.gPU *Neorhodomela aculeata*<sup>-1</sup> no verão de 2009, quando a temperatura da água variou entre 22 e 24 °C. Contudo, a presença do gênero ocorreu mesmo quando a temperatura da água do mar atingiu 7°C durante o inverno (Selina et al., 2014).

Neste estudo as abundâncias mais elevadas do gênero *Prorocentrum* (16000 céls.gPU *P. boergesii*<sup>-1</sup>), representadas principalmente pela espécie *P. lima*, também foram observadas no sítio 5 durante o verão. Em Arraial do Cabo, Rio de Janeiro a abundância máxima de *P. lima* (1.2 x10<sup>4</sup> céls.gPU *Colpomenia sinuosa*<sup>-1</sup>) foi registrada no verão de 2007 (Nascimento et al., 2010). Abundâncias de *P. lima* semelhantes as



encontradas nesse estudo foram registradas em uma lagoa costeira no Reino Unido (máxima de 13000 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>) durante o verão (Foden et al., 2005). No Mar Mediterrâneo Vila et al. (2001) reportaram abundância de *Prorocentrum lima* igual a 650 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup> no verão de 1997. No Havaí, na Florida e no Mar do Caribe o gênero *Prorocentrum* foi registrado em densidades variando entre 650 a 1800 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup> (Parsons e Preskitt, 2007; Bomber et al., 1989; Moreira et al., 2012).

O gênero *Gambierdiscus* atingiu abundância de 1900 céls.gPU<sup>-1</sup> em uma amostra de *Dictyota* em Porto de Galinhas no verão, representando 41% da densidade total de dinoflagelados epi-bentônicos nesta amostra de macroalga. Em todas as demais amostras analisadas neste estudo a abundância de *Gambierdiscus* foi inferior a 80 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>. Apenas 10% das florações de *Gambierdiscus* são encontradas em densidades que variam entre 1000 e 10000 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup> (Kohli et al., 2014).

Valores baixos de abundância do gênero *Gambierdiscus* foram registrados em outras localidades no Brasil como Armação dos Búzios (máximo de 74 céls.gPU *S. vulgare*<sup>-1</sup>, Nascimento et al., 2012c) e Arquipélago de Abrolhos, Bahia (máximo de 4 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>, Diniz et al., 2012). *Gambierdiscus excentricus* foi encontrado na praia de Itapuã, Salvador, BA, localizada a 13 km da praia de Placafor, com abundância de 250 céls.gPU<sup>-1</sup> em dezembro de 2012 (Mendes et al., 2013).

No Oceano Atlântico (mar do Caribe) e no Oceano Pacífico as abundâncias de *Gambierdiscus* podem atingir 100000 céls.gPU macroalga<sup>-1</sup> (Litaker et al., 2010). A abundância de *Gambierdiscus*, embora semelhante, é mais elevada no Pacífico do que no Atlântico, e esses dados sugerem que, em grande escala, há uma correlação positiva entre a abundância das espécies de *Gambierdiscus* numa região e a ocorrência de ciguatera (Litaker et al., 2010). Contudo, o risco de ocorrência de ciguatera também depende fortemente das espécies de *Gambierdiscus* presentes, já que cada espécie tem um perfil de toxinas único (Kohli et al., 2014).

A densidade máxima de *Amphidinium* encontrada neste estudo foi igual a 160 céls.gPU *S. vulgare*<sup>-1</sup> no sítio 5. Baixas densidades do gênero *Amphidinium* (104 e 175 céls.gPU<sup>-1</sup>) foram reportadas no Rio de Janeiro, Brasil (Nascimento et al., 2010) e na Micronésia (Xu et al., 2014), enquanto que no Havaí as abundâncias desse gênero atingiram 270 céls.gPU<sup>-1</sup> (Parsons & Preskitt, 2007).

*Coolia* spp. foi o gênero registrado em menores abundâncias, de no máximo 160 céls.gPU *S. vulgare*<sup>-1</sup> no verão no sítio 5. Densidades semelhantes foram registradas no sudeste do Brasil (170 céls.gPU<sup>-1</sup> e 480 céls.gPU<sup>-1</sup>) em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo (Nascimento et al., 2010). Enquanto que no mar Mediterrâneo (16000 céls.gPU<sup>-1</sup>) e no Havaí (14000 céls.gPU<sup>-1</sup>) densidades mais elevadas foram registradas (Aligizaki & Nikolaidis, 2006; Parsons & Preskitt, 2007).

#### **4.2 Morfologia e Genética de *Ostreopsis***

O padrão das placas tecais, forma e tamanho das células são os caracteres morfológicos diagnósticos do gênero *Ostreopsis* (Penna et al., 2005; Aligizaki & Nikolaidis, 2006). Entretanto, o padrão das placas é muito similar entre as espécies do gênero, o que dificultada à identificação por microscopia, pois qualquer espécie se encaixa na descrição da espécie tipo (*O. siamensis*) (Parsons et al., 2012). A única exceção seria a espécie *O. heptagona*.

No presente estudo, a maioria das células apresentou a forma típica de *O. cf. ovata*, de gota ou oval, mas em alguns casos células mais arredondadas foram encontradas nos sítios estudados. Células com diâmetro DV na faixa de sobreposição do DV das espécies *O. cf. ovata* e *O. cf. siamensis* (entre 60 e 85µm) foram encontradas no sítio 1, dificultando a distinção entre as duas espécies. As espécies *O. cf. siamensis* e *O. cf. ovata* são muito parecidas do ponto de vista morfológico. As principais características que as diferenciam são o tamanho da célula, a razão entre o diâmetro

DV/AP, que segundo Penna et al. (2005) é  $> 4$  em *O. cf. siamensis* e  $< 2$  em *O. cf. ovata* e o tamanho dos poros tecais (Penna et al., 2005; Aligizaki & Nikolaidis, 2006, Parsons et al., 2012). Devido aos problemas morfológicos mencionados e a falta de dados genéticos para os espécimes holótipos a partir do qual a descrição original das espécies *O. siamensis* e *O. ovata* foram realizadas, Penna et al. (2005) recomendam que essas espécies sejam referenciadas como *O. cf. ovata* e *O. cf. siamensis* até que dados morfológicos acurados e sequências genéticas das localidades tipo sejam geradas e as espécies sejam então claramente definidas (Parsons et al., 2012).

A razão DV/AP (1.9 – 2.4) das células de *Ostreopsis* encontradas no sítio 5 (Jan/13) se encaixa naquela proposta para a espécie *O. cf. ovata* segundo Aligizaki & Nikolaidis,( 2006) e Penna et al. (2005).

As sequências de ITS das células analisadas no sítio 5 mostraram que estas tratam-se de *O. cf. ovata* pertencente ao clado Atlântico/Mediterrâneo/Pacífico (Sato et al., 2011; Tawong et al., 2014). Já as células do sítio 1 não foram analisadas do ponto de vista molecular e é possível que as células com DV maior do que 60  $\mu\text{m}$  representem uma outra espécie de *Ostreopsis*.

Células pequenas de *O. cf. ovata* com DV entre 28 – 40  $\mu\text{m}$  foram encontradas no sítio 5 (Jan/13). No mar Mediterrâneo, células pequenas (DV entre 19 – 40 $\mu\text{m}$ ) foram encontradas durante evento de floração de *O. cf. ovata*, representando entre 4 e 25% da população (Accoroni et al., 2012). Naquele evento de floração, Accoroni et al. (2012) investigou as características morfométrica de *O. cf. ovata* em cada fase de crescimento (inicial, proliferação e declínio), e observou que durante a fase final as células apresentaram o diâmetro DV (56  $\mu\text{m} \pm 9$ ) significativamente maior do que nas outras fases.

## 5.0 Conclusão

Este estudo mostrou a ampla distribuição dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum* e *Gambierdiscus* ao longo de 836 km na costa nordeste do Brasil. Elevadas abundâncias de *Ostreopsis* cf. *ovata* e *Gambierdiscus* foram encontradas em dois pontos da costa e são passíveis de causar impactos ecológicos e à saúde humana. Além disso, abundâncias mais elevadas foram encontradas no verão do que no inverno. A morfometria do gênero *Ostreopsis* demonstrou variabilidade na forma e no tamanho das células, o que dificulta a identificação das morfo-espécies do gênero, tornando necessária a análise genética para confirmação da identificação baseada na morfologia. Mais estudos são necessários para compreender os fatores ambientais relacionados a essas proliferações.

## Referências

- Accoroni, S., Romagnoli, T., Colombo, F., Pennesi, C., Di Camillo, C.G., Marini, M., Battocchi, C., Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Dello Iacovo, E., Fattorusso, E., Tartaglione, L., Penna, A., Totti, C., 2011. *Ostreopsis* cf. *ovata* bloom in the northern Adriatic Sea during summer 2009: ecology, molecular characterization and toxin profile. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2512–2519.
- 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* 19, 15–22.
- Adachi, Masao; Sako, Y.I.Y., 1994. Restriction Fragment Length Polymorphism of Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer and 5.8S regions in Japanese *Alexandrium* species (DINOPHYCEAE). *J. Phycol.* 30, 857 – 863.
- 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.
- Bomber, J.W., Rubio, M.G., Norris, D.R., 1989. Epiphytism of dinoflagellates associated with the disease ciguatera: substrate specificity and nutrition. *Phycologia* 28, 360–368.
- Chang, F.H., Tasker, R., 2000. Three recently recorded *Ostreopsis* spp. (Dinophyceae) in New Zealand: temporal and regional distribution in the upper North Island from 1995 to 1997. *New Zeal. J. Mar. Freshwater Res.* 34, 29–39.

- Ciminiello, P., Aversano, C.D., Fattorusso, E., Forino, M., Magno, G.S., Tartaglione, L., Grillo, C., Melchiorre, N., Naturali, S., Ii, F., Montesano, D., Spezia, D. La, Regionale, A., 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.
- Diniz, Bruna S.; Ferreira, Carlos Eduardo L.; Nascimento, S.M., 2012. Ocorrência do Gênero *Gambierdiscus* (DINOPHYTA) na cossta brasileira. *Congr. Bras. Oceanogr.* 458.
- Fensome R.A. 1993. A Classification of living fossil dinoflagellates. R.A. Fensome; F.J.R. Taylor; D.I. Wharton; G.L. Williams. *American Musseum of Natural History*.
- Ferreira, C.E.L., 2006. Sea Urchins Killed by Toxic Algae. *JMBA Glob. Mar. Environ.* 22 – 23.
- Foden, J., Purdie, D. a., Morris, S., Nascimento, S., 2005. Epiphytic abundance and toxicity of *Prorocentrum lima* populations in the Fleet Lagoon, UK. *Harmful Algae* 4, 1063–1074.
- Fukuyo, Y., 1981. Taxonomical Study on Benthic Dinoflagellates collected in Coral Reefs. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.* 47, 967 – 978.
- GEOHAB 2012. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, GEOHAB Core Research Project: HABs in Benthic Systems. E. Berdalet, P. Tester, A. Zingone (Eds.) IOC of UNESCO and SCOR, Paris and Newark, 64 pp.
- Granéli,E., Ferreira,C.E.L., Yasumoto, T., Rodrigues, E. & Neves, M. H. B. (2002). Sea urchins poisoning by the benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata* on the Brazilian coast. *10<sup>th</sup> International Conference on Harmful Algae*, St. Petersburg, Florida, EUA. 113p.
- Hallegraeff G.M. 2002 Harmful Algal Blooms: A global overview. In. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. G.M. Hallegraeff; D.M. Anderson and A.D. Cembella. *United national Educational, Scientific and Cultural Organization*.
- Hoppenrath, M., Chomérat, N., Horiguchi, T., Schweikert, M., Nagahama, Y., Murray, S., 2013. Taxonomy and phylogeny of the benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae)—A proposal and review. *Harmful Algae* 27, 1–28.
- Kohli, G.S., Murray, S. a., Neilan, B. a., Rhodes, L.L., Harwood, D.T., Smith, K.F., Meyer, L., Capper, A., Brett, S., Hallegraeff, G.M., 2014. High abundance of the potentially maitotoxic dinoflagellate *Gambierdiscus carpenteri* in temperate waters of New South Wales, Australia. *Harmful Algae* 39, 134–145.
- Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J. and Higgins D.G. (2007) ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics* 23(21): 2947-2948.

- Laza-Martinez, A., Orive, E., Miguel, I., 2011. Morphological and genetic characterization of benthic dinoflagellates of the genera *Coolia*, *Ostreopsis* and *Prorocentrum* from the south-eastern Bay of Biscay. *Eur. J. Phycol.* 46, 45–65.
- Litaker, R.W., Vandersea, M.W., Faust, M. a, Kibler, S.R., Nau, A.W., Holland, W.C., Chinain, M., Holmes, M.J., Tester, P. a, 2010. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon* 56, 711–30.
- 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., Grosseil, 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, 408–20.
- Mendes, A.C.Q; Menezes, M.; Santos, L.P.N.; Nunes, J.M.C. 2012. Ocorrência de Dinoflagelados epi-bentônicos potencialmente nocivos na Praia de Itapuã, Salvador, Bahia, nordeste do Brasil: Congr. Bras. Oceanogr. 2012.
- Mendes, A.C.Q; Menezes, M.; Affel, H.M.J.; Santos, L.P.N.; Nunes, J.M.C. 2013. Ocorrência de *Gambierdiscus*, *Ostreopsis* e *Prorocentrum* em Salvador-Bahia, Brazil. Reunião latino Americana sobre Algas Nocivas
- Moreira, A., Rodríguez, F., Riobó, P., Franco, J.M., Martínez, N., Chamero, D., Alonso, C., 2012. Notes on *Ostreopsis* sp . from Southern-Central Coast of Cuba Notes on *Ostreopsis* sp . from southern-central coast of Cuba. *BioOne Res. Evolved* 33, 217–224.
- Nascimento, M., Monteiro, O., Alencar, G., Meneguelli, C., 2010. Epi-benthic Dinoflagellates from the Rio de Janeiro coastline, Brazil. In: GEOHAB: “Open science meeting oh Harmfull Algae blooms in benthic systemas”, Honolulu Hawaii.
- Nascimento, S. M., França, J. V., Gonçalves, J. E. a, & Ferreira, C. E. L. 2012a. *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) bloom in an equatorial island of the Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 64(5), 1074–8.
- Nascimento, S.M Correia, A.V., Menezes, M., Varela, D., Paredes, J., Morris, S. 2012a. Growth and toxin profile of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) from Rio de Janeiro, Brazil. *Harmfull Algae* (13) 1 – 9.
- Nascimento, Silvia M.; Alencar, Alice G.; Menezes, M., 2012c. Firsrt record of the ciguatera causing genus *Gambierdiscus* in Brazil. *Harmful Algae News* 8 – 9.
- Okolodkov, Y., Campos-Bautista, G., Gárate-Lizárraga, I., González-González, J., Hoppenrath, M., Arenas, V., 2007. Seasonal changes of benthic and epiphytic dinoflagellates in the Veracruz reef zone, Gulf of Mexico. *Aquat. Microb. Ecol.* 47, 223–237.
- Parsons, M.L., Aligizaki, K., Bottein, M.-Y.D., Fraga, S., Morton, S.L., Penna, A., Rhodes, L., 2012. *Gambierdiscus* and *Ostreopsis*: Reassessment of the state of knowledge of their taxonomy, geography, ecophysiology, and toxicology. *Harmful Algae* 14, 107–129.

- Parsons, M.L., Preskitt, L.B., 2007. A survey of epiphytic dinoflagellates from the coastal waters of the island of Hawai'i. *Harmful Algae* 6, 658–669.
- Penna, A., Vila, M., Fraga, S., Giacobbe, M.G., Andreoni, F., Riobó, P., Vernesi, C., 2005. Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (DINOPHYCEAE) isolates in the western Mediterranean sea based on Morphology, Toxicity and Internal Transcribed Spacer 5.8S rDNA sequences. *J. Phycol.* 41, 212–225.
- Proença, L.A.O., Boemer, G.L., Dias, J.P., Hatherly, M.M., Mendes, I.L., Mendes, L.A.M., Mendes, M.C.Q., Rossi, W.C., Tamanaha, M.S., Tenenbaum, D.R., Schramm, M.A., 2010. Can the cases of airborne intoxication of beach users in south coast of Bahia (168240S, 398020W) be related to microalgae? In: GEOHAB OSM on Benthic HABS, Honolulu, Hawaii.
- Rhodes, L.L., Smith, K.F., Munday, R., Selwood, A.I., McNabb, P.S., Holland, P.T., Bottein, M.-Y., 2010. Toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from Rarotonga, Cook Islands. *Toxicon* 56, 751–8.
- Sato, S., Nishimura, T., Uehara, K., Sakanari, H., Tawong, W., Hariganeya, N., Smith, K., Rhodes, L., Yasumoto, T., Taira, Y., Suda, S., Yamaguchi, H., Adachi, M., 2011. Phylogeography of *Ostreopsis* along west Pacific coast, with special reference to a novel clade from Japan. *PLoS One* 6, 27983.
- Selina, M.S., Morozova, T. V., Vyshkvartsev, D.I., Orlova, T.Y., 2014. Seasonal dynamics and spatial distribution of epiphytic dinoflagellates in Peter the Great Bay (Sea of Japan) with special emphasis on *Ostreopsis* species. *Harmful Algae* 32, 1–10.
- 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.
- Skinner, M.P., Lewis, R.J., Morton, S., 2013. Ecology of the ciguatera causing dinoflagellates from the Northern Great Barrier Reef: changes in community distribution and coastal eutrophication. *Mar. Pollut. Bull.* 77, 210–9.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725–9.
- Tawong, W., Nishimura, T., Sakanari, H., Sato, S., Yamaguchi, H., Adachi, M., 2014. Distribution and molecular phylogeny of the dinoflagellate genus *Ostreopsis* in Thailand. *Harmful Algae* 37, 160–171.
- Taylor, F.J.R. 1987. *The Biology of Dinoflagellates*. *BlackWell Scientific Publications*: 749pp.
- Tindall, D.R., Morton, S.L., 1998. Community dynamics and physiology of epiphytic/benthic dinoflagellates associated with ciguatera. In: Anderson, D.M., Cembella, A.D., Hallegraeff, G.M. (Eds.), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 293–313.

- 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.
- Vila, M., Garcés, E., Masó, M., 2001. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquat. Microb. Ecol.* 26, 51–60.
- Xu, Y., Richlen, M.L., Morton, S.L., Mak, Y.L., Chan, L.L., Tekiau, A., Anderson, D.M., 2014. Distribution, abundance and diversity of *Gambierdiscus* spp. from a ciguatera-endemic area in Marakei, Republic of Kiribati. *Harmful Algae* 34, 56–68.



## Lista de Figuras

Figura 1: Localização dos sete sítios de amostragem ao longo da costa nordeste do Brasil.

Figura 2: Faixa de variação da densidade (célis.gPU macroalga<sup>-1</sup>) no intervalo interquartil e seus respectivos valores de máximo, mínimo e mediana dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, e *Amphidinium* em cada um dos sítios de amostragens de julho de 2012 e janeiro de 2013.

Figura 3: Células de *Ostreopsis* cf. *ovata* encontrados nos sítios de amostragens de janeiro de 2013 com diferentes dimensões. (a) Poro apical em vista lateral; (b) Placas tecais em vista apical; (c) *O.* cf. *ovata* em vista apical.

Figura 4: Reconstrução filogenética utilizando a sequência obtida para o loco ITS a partir de três células de *Ostreopsis* cf. *ovata* no sítio 5. Outras sequências obtidas no banco de dados GenBank. Árvore gerada pelo método de Maximum Likelihood (mL) com teste de bootstrap de 1000 replicações.

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Sítios de amostragens, com suas respectivas coordenadas geográficas. Macroalgas coletas (número amostral). Valores de temperatura (°C) e salinidade no momento da coleta.

Tabela 2: Densidade média (céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>) dos gêneros de dinoflagelados epibentônicos por espécie de macroalga em cada sítios amostrado em julho de 2012, incluindo valores médios por macroalgas pardas e vermelhas e por sítios, além da densidade total em cada macroalga. (-) = ausência do gênero.

Tabela 3: Densidade média (céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>) dos gêneros de dinoflagelados epibentônicos por espécie de macroalga em cada sítio amostrado em janeiro de 2013, incluindo valores médios por macroalgas pardas e vermelhas e por sítio, além da densidade total em cada macroalga. (-) = ausência do gênero.

Tabela 4: Faixa de variação, média e desvio padrão das dimensões diâmetro dorso-ventral (DV); transdiâmetro (W) e diâmetro antero-posterior, além das razões entre DV/AP, W/AP, DV/W das quatro morfo-espécies de *Ostreopsis cf. ovata* nas praias da Penha e Forte, Bahia. N = número de células medidas.

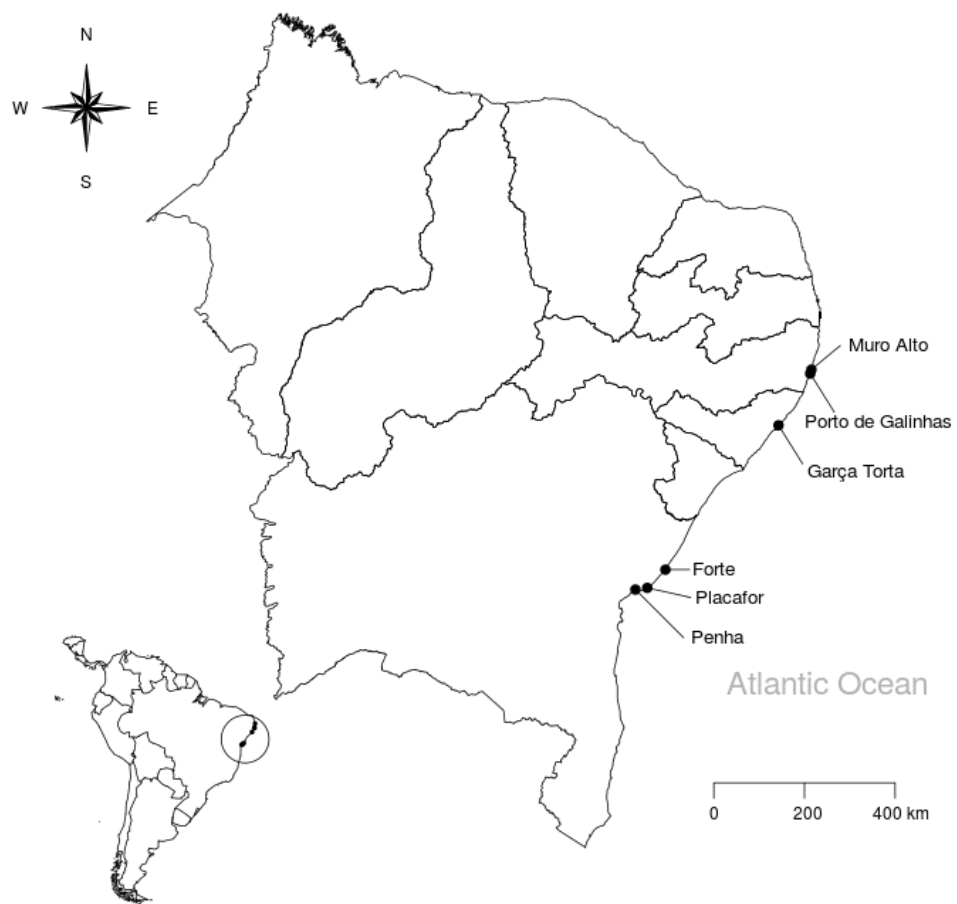


Figura 1: Localização das sete estações de amostragem ao longo da costa nordeste do Brasil.

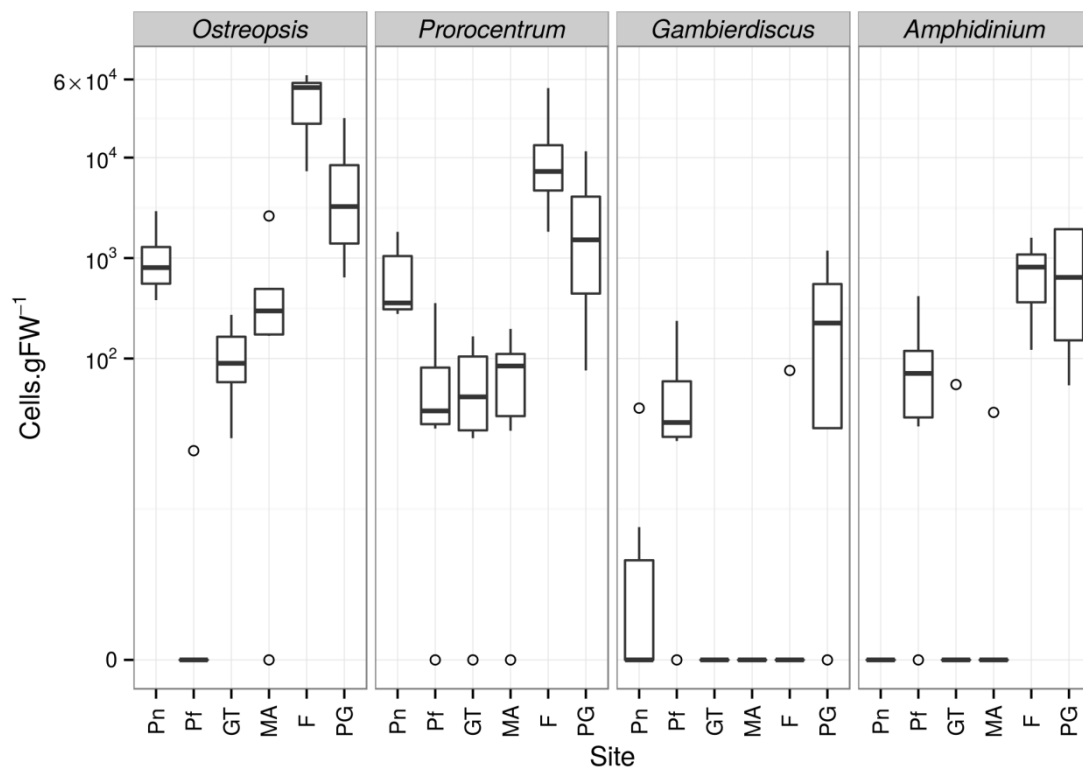


Figura 2: Faixa de variação da densidade (célis.gPU macroalga<sup>-1</sup>) no intervalo interquartil e seus respectivos valores de máximo, mínimo e mediana dos gêneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Gambierdiscus*, e *Amphidinium* em cada um dos sítios de amostragens de julho de 2012 e janeiro de 2013.

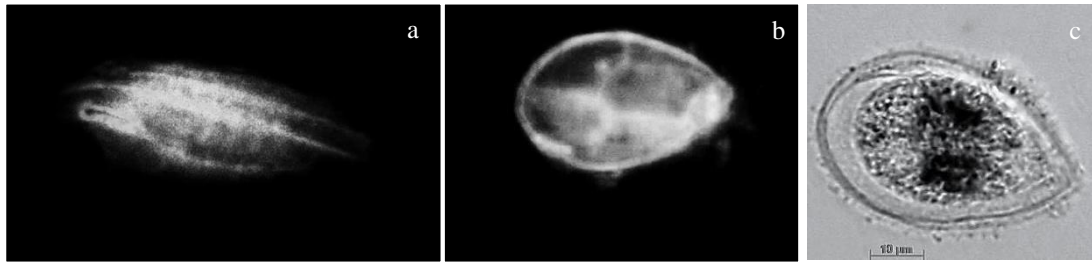


Figura 3: Células de *Ostreopsis* cf. *ovata* encontrados nos sítios de amostragens de janeiro de 2013 com diferentes dimensões. (a) Poro apical em vista lateral; (b) Placas tecais em vista apical; (c) *O. cf. ovata* em vista apical.

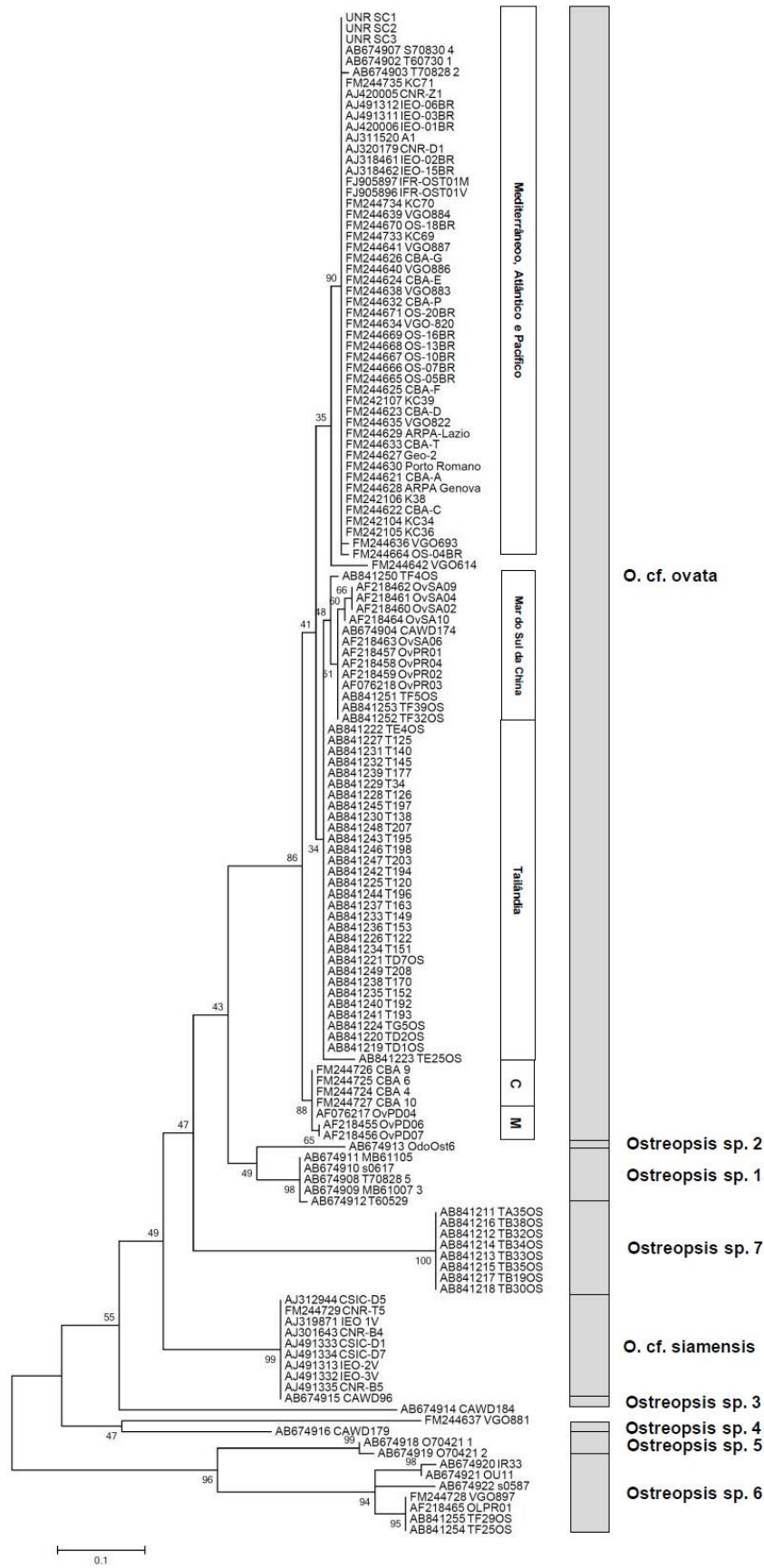


Figura 4: Reconstrução filogenética utilizando a sequência obtida para o loco ITS a partir de três células de *Ostreopsis cf. ovata* do sítio 5. Outras sequências obtidas no banco de dados GenBank. Árvore gerada pelo método de Maximum Likelihood (ML) com teste de bootstrap de 1000 replicações.

Tabela 1: Sítios de amostragem, com suas respectivas coordenadas geográficas. Macroalgas coletadas (número amostral). Valores de temperatura (°C) e salinidade no momento da coleta.

Sítios	Macroalgas	Temp.	Sal.
Sítio 1 12°59'27''S 38°37'29''W	<i>Sargassum vulgare</i> (n=3); <i>Padina boergesenii</i> (n=3); <i>Canistrocarpus cervicornis</i> (n=4) <i>Agardhiella subulata</i> (n=2); <i>Gracilaria mammillaris</i> (n=3); <i>Gracilaria domingenses</i> (n=3)	27.7	34.2
Sítio 2 12°57'20''S 38°22'45''W	<i>Dictyopteris delicatula</i> (n=3); <i>Padina gymnospora</i> (n=4); <i>Lobophora variegata</i> (n=1); <i>Sargassum hystrix</i> (n=3) <i>Amansia multifida</i> (n=3); <i>Plocamium brasiliensis</i> (n=1)	27.4	35.7
Sítio 3 08°25'45''S 34°58'40''W	<i>Dictyopteris delicatula</i> (n=3); <i>Canistrocarpus crispatus</i> (n=4) <i>Gelidium floridanum</i> (n=2); <i>Gelidiella acerosa</i> (n=3); <i>Hypnea spinella</i> (n=1) <i>Bryopsis pennata</i> (n=3)	28.9	35.4
Sítio 4 09°35'00''S 35°39'35''W	<i>Sargassum vulgare</i> (n=3); <i>Dictyopteris delicatula</i> (n=3) <i>Gelidiella acerosa</i> (n=1); <i>Gracilaria</i> sp. (n=2); <i>Amansia multifida</i> (n=3)	27.9	34.2
Sítio 5 12°34'39''S 38°0'6''W	<i>Canistrocarpus crispatus</i> (n=1); <i>Padina boergesenii</i> (n=3); <i>Sargassum vulgare</i> (n=3) <i>Dictyopteris polypodioides</i> (n=1); <i>Dictyota menstrualis</i> (n=1); <i>Hypnea musciformis</i> (n=3)	-	-
Sítio 6 08°30'40''S 35°00'7''W	<i>Sargassum vulgare</i> (n=3); <i>Dictyota</i> sp. (n=1) <i>Amphiroa brasiliensis</i> (n=3); <i>Ochtodes secundiramea</i> (n=1)	-	-

Tabela 2: Densidade média (céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>) dos gêneros de dinoflagelados epibentônicos por espécie de macroalga em cada sítio amostrado em julho de 2012, incluindo valores médios por macroalgas pardas e vermelhas e por estação, além da densidade total em cada macroalga. (-) = ausência do gênero.

Macroalga	<i>Ostreopsis</i> spp.	<i>Prorocentrum</i> spp.	<i>Gambierdiscus</i> spp.	<i>Coolia</i> spp.	<i>Sinophysis</i> spp.	<i>Amphidinium</i> spp.	Dinoflagelado tecado não identificado	Total
<b>PENHA - BA (SITIO 1)</b>								
<i>Sargassum vulgare</i> (n=3)	127	129	0	0	0	-	17	272
<i>Padina boergesenii</i> (n=3)	334	473	0	0	0	-	17	824
<i>Canistrocarpus cervicornis</i> (n=4)	162	456	8	0	0	-	18	644
Média das pardas	207	353	3	0	0	-	17	580
<i>Agardhiella subulata</i> (n=2)	701	131	1	0	0	-	0	832
<i>Gracilaria mammillaris</i> (n=3)	977	108	0	10	10	-	0	1105
<i>Gracilaria domingenses</i> (n=3)	176	96	0	0	0	-	21	293
Média das vermelhas	618	112	0	3	3	-	7	743
Média da estação	413	232	1	2	2	-	12	662
<b>PLACAFOR - BA (SITIO 2)</b>								
<i>Dictyopteris delicatula</i> (n=3)	4	0	8	0	-	16	8	36
<i>Padina gymnospora</i> (n=4)	0	89	59	4	-	104	36	292
<i>Lobophora variegata</i> (n=1)	0	20	80	0	-	0	20	120
<i>Sargassum hystrix</i> (n=3)	0	10	0	2	-	41	8	61
Média das algas pardas	1	30	37	2	-	40	18	127
<i>Plocamium brasiliensis</i> (n=1)	0	30	15	15	-	105	15	180
<i>Amansia multifida</i> (n=3)	0	38	7	0	-	7	12	64
Média das algas vermelhas	0	34	11	7	-	56	14	122
Média da estação	0	32	24	5	-	48	16	125
<b>MURO ALTO - PE (SITIO 3)</b>								
<i>Dictyopteris delicatula</i> (n=3)	155	39	-	-	-	0	26	220
<i>Canistrocarpus crispatus</i> (n=4)	656	5	-	-	-	7	59	728
Média das algas pardas	406	22	-	-	-	4	43	474
<i>Gelidium floridanum</i> (n=2)	96	36	-	-	-	0	0	132
<i>Gelidiella acerosa</i> (n=3)	167	32	-	-	-	0	30	230
<i>Hypnea spinella</i> (n=1)	168	197	-	-	-	0	140	505
Média das algas vermelhas	144	88	-	-	-	0	57	289
<i>Bryopsis pennata</i> (n=3)	177	0	-	-	-	0	0	177
Média da estação	177	0	-	-	-	0	0	177
<b>GARÇA TORTA (SITIO 4)</b>								
<i>Sargassum vulgare</i> (n=3)	32	16	-	0	-	0	21	70
<i>Dictyopteris delicatula</i> (n=3)	65	44	-	39	-	18	0	166
Média das algas pardas	49	30	-	19	-	9	11	118
<i>Hypnea musciformis</i> (n=1)	52	0	-	0	-	0	0	52
<i>Gracilaria</i> sp. (n=2)	49	26	-	0	-	0	0	75
<i>Amansia multifida</i> (n=3)	90	55	-	4	-	0	5	154
Média das algas vermelhas	64	27	-	1	-	0	2	94
Média da estação	56	29	-	10	-	5	6	106



Tabela 3: Densidade média (céls.gPU macroalga<sup>-1</sup>) dos gêneros de dinoflagelados epibentônicos por espécie de macroalga em cada sítio amostrado em janeiro de 2013, incluindo valores médios por macroalgas pardas e vermelhas e por estação, além da densidade total em cada macroalga. (-) = ausência do gênero.

Macroalga	<i>Ostreopsis</i> spp.	<i>Prorocentrum</i> spp.	<i>Gambierdiscus</i> spp.	<i>Coolia</i> spp.	<i>Sinophysis</i> spp.	<i>Amphidinium</i> spp.	Dinoflagelado tecado não identificado	Total
<b>FORTE - BA (SÍTIO 5)</b>								
<i>Padina boergesenii</i> (n=3)	22019	16411	0	104	79	531	57	39202
<i>Canistrocarpus crispatus</i> (n=1)	55610	1829	0	0	0	122	0	57561
<i>Sargassum vulgare</i> (n=3)	8119	4058	25	38	38	0	306	12583
<i>Dictyopteris polypodioides</i> (n=1)	4878	1067	0	0	0	14	14	5973
<i>Dictyota menstrualis</i> (n=1)	40339	5579	0	0	0	0	1073	46990
Média das pardas	26193	5789	5	28	23	133	290	32462
<i>Hypnea musciformis</i> (n=3)	18300	5253	0	145	0	360	60	24119
Média da estação	22247	5521	3	87	12	247	175	28290
<b>PORTO DE GALINHAS - PE (SÍTIO 6)</b>								
<i>Sargassum vulgare</i> (n=2)	7202	4505	193	116	0	324	0	12340
<i>Sargassum cymosum</i> (n=1)	10341	2554	41	247	0	1277	0	14461
<i>Dictyota</i> sp. (n=1)	642	797	1186	19	0	214	19	2879
Média das pardas	6061	2619	474	128	0	605	6	9893
<i>Amphiroa brasiliiana</i> (n=3)	3497	1414	46	45	6	1193	0	6201
<i>Ochtodes secundiramea</i> (n=1)	1807	76	0	22	0	54	11	1970
Médias das vermelhas	2652	745	23	33	3	624	5	4086
Média da estação	4357	1682	248	80	1	614	6	6989

Tabela 4: Faixa de variação, média e desvio padrão das dimensões diâmetro dorso-ventral (DV); transdiâmetro (W) e diâmetro antero-posterior, além das razões entre DV/AP, W/AP, DV/W das três morfo-espécies de *O. cf. ovata* nos sítios 1 (Penha) e 2 (Forte) na Bahia, n = número de células medidas.

	DV	W	AP	DV/AP	W/AP	DV/W
<b>Penha – BA</b>						
<i>O. cf. ovata</i> (40 – 60µm)	48 – 60	31 – 63	-	-	-	0.8 – 1.6
<b>n=35</b>	56 ± 3	41 ± 7	-	-	-	1.4 ± 0.2
<i>O. cf. ovata</i> (>60µm)	61 – 85	39 – 61	-	-	-	1.2 – 1.7
<b>n=70</b>	67 ± 6	48 ± 5	-	-	-	1.4 ± 0.1
<b>Forte – BA</b>						
<i>O. cf. ovata</i> (< 40µm)	28 – 40	13 – 23	11 – 18	2.0 – 2.7	1.1 – 1.6	1.6 – 2.1
<b>n=22</b>	36 ± 3	20 ± 3	15 ± 2	2.4 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.8 ± 0.1
<i>O. cf. ovata</i> (40 – 60 µm)	43 – 60	23 – 46	16 – 39	1.5 – 2.9	1.1 – 1.9	1.2 – 2.1
<b>n=92</b>	52 ± 4	33 ± 6	24 ± 5	2.2 ± 0.4	1.4 ± 0.1	1.6 ± 0.2
<i>O. cf. ovata</i> (> 60µm)	61 – 65	37 – 43	29 – 37	1.7 – 2.1	1.1 – 1.4	1.5 – 1.6
<b>n=8</b>	62 ± 1	41 ± 2	33 ± 3	1.9 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.5 ± 0.1