

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL - PPEA
MESTRADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
MODALIDADE PROFISSIONAL

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE MEXILHÕES *Perna perna*
(LINNAEU, 1758) E MONITORAMENTO FITOPLANCTÔNICO EM
FAZENDA DE MARICULTURA DA RESERVA EXTRATIVISTA
MARINHA DE ARRAIAL DO CABO, RJ.

DANIELA ALMEIDA DE SOUZA

MACAÉ/RJ

2014

DANIELA ALMEIDA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE MEXILHÕES *Perna perna*
(LINNAEU, 1758) E MONITORAMENTO FITOPLANCTÔNICO EM
FAZENDA DE MARICULTURA DA RESERVA EXTRATIVISTA
MARINHA DE ARRAIAL DO CABO, RJ.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, na linha de pesquisa Avaliação e Gestão Ambiental, área de concentração Ecotoxicologia Aquática, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense.

Orientador: Professor *D.Sc.* Manildo Marcião de Oliveira (Doutor em Ciências – Área de Concentração em Biotecnologia Nuclear pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro).

Coorientadora: Professora *D.Sc.* Maria Helena Campos Baeta Neves (Doutora em Oceanografia Biológica pela Université Pierre et Marie Curie).

MACAÉ/RJ

2014

R696e Souza, Daniela Almeida de

Avaliação da toxicidade de mexilhões *Perna perna* (Linnaeu, 1758) e monitoramento fitoplanctônico em fazenda de maricultura da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ / Daniela Almeida de Souza. – Macaé, RJ: [s.n.], 2014.

73 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, *campus* Macaé, 2014.

Orientador: Manildo Marcião de Oliveira

Coorientadora: Maria Helena Campos Baeta Neves

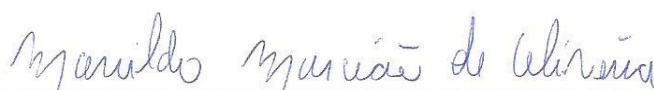
1. Toxicidade – Fitoplâncton – Rio de Janeiro (Estado). 2. Monitoramento – Legislação. 3. Mexilhão – Ficotoxina – Arraial do Cabo (RJ). I. Oliveira, Manildo Marcião de, orient. II. Neves, Maria Helena Campos Baeta. III. Título. IV. Instituto Federal Fluminense.

CDD 639.312098153

Dissertação intitulada Avaliação da toxicidade de mexilhões *Perna perna* (Linnaeu, 1758) e monitoramento fitoplanctônico em fazenda de maricultura da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, elaborada por Daniela Almeida de Souza e apresentada publicamente perante a Banca Examinadora, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, na linha de pesquisa Avaliação e Gestão Ambiental, área de concentração Ecotoxicologia Aquática, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense.

Aprovada em 03 de Outubro de 2014.

Banca Examinadora:



Manildo Marcião de Oliveira – Orientador
Doutor em Ciências – Área de Concentração em Biociências Nucleares pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense (IFF)



Maria Helena Campos Baeta Neves – Co-orientadora
Doutora em Oceanografia Biológica pela Université Pierre et Marie Curie
Instituto de Pesquisa do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM)



Mathias Alberto Schramm
Doutor em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC)

À minha mãe, Genilda, exemplo de dedicação e perseverança — em quem me espelho.

Ao meu marido, Luzemberg, exemplo de paciência e compreensão — em quem me inspiro.

À minha filha Raquel e minha irmã Viviane, exemplos de alegria e coragem — de quem me orgulho.

AGRADECIMENTOS

A Deus: Seu fôlego de vida em mim me foi sustento.

Aos meus pais (Genilda e Gilberto) e minha filha Raquel Almeida pelo carinho e paciência pela minha ausência aos momentos em família. A minha irmã Viviane Almeida, pela amizade e companheirismo. Seu incentivo me ajudou a ir atrás do sonho e transformá-lo em conquista. Amo vocês!

À Luzemberg Soares, que no meio dessa jornada passou de amigo a marido, fazendo a minha vida mais feliz. Por ser meu companheiro, conselheiro e ombro amigo em momentos difíceis. E, principalmente, pelo amor imenso que me dedica todos os dias de nossa vida em comum.

Ao professor Dr. Manildo Marcião de Oliveira, que foi orientador, amigo e conselheiro; por tudo que aprendi com ele. Meu melhor exemplo de ética profissional e ética pessoal. Muito obrigada!

A Dra. Maria Helena C. Baeta Neves, por seus ensinamentos e paciência; por gentilmente me instruir na identificação do fitoplâncton. É um presente tê-la como minha coorientadora.

Aos professores Dr. Mathias Alberto Schramm e Dr. Luis Antônio de O. Proença, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC) pelos conselhos e pelo privilégio de uma produção compartilhada.

Aos amigos: Dr. Artur Moes, pela ponte junto ao Departamento de Bioquímica do IBRAG/UERJ, muito importante para a realização de boa parte desta pesquisa; a Fátima Ribeiro, sem sua ajuda não teria como conciliar estudo e trabalho; a Vladimir Rojas, por estar sempre pronto a ajudar em qualquer aspecto desta dissertação; e ao Dr. Ricardo Gaelzer (IEAPM) e Alexandre Soares (IFRJ), pelo apoio com os dados estatísticos.

A família LEMAM do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense do campus Cabo Frio. Em especial a Gabriela Luiza por ser minha assistente de pesquisa. A Celso Júnior, Alan e Murilo Moraes, sempre amigos e presentes nos auxiliando.

Aos colegas do curso de mestrado pelos momentos que tivemos a oportunidade de dividir. A Marcelo Tardelli, Thiago Merici e Maryellen Reis pela alegria em nossas viagens e pelo companheirismo para que pudéssemos chegar juntos ao final desta jornada.

E aos professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense (IFF), que foram tão importantes na minha vida acadêmica.

“Sonhos determinam o que você quer.
Ação determina o que você conquista.”

Aldo Novak

RESUMO

Ambientes costeiros vêm sofrendo aporte de diversos contaminantes há décadas. Além da contaminação dos ecossistemas aquáticos por ação antropogênica, há a contaminação de alguns organismos desses ecossistemas por toxinas presentes na própria cadeia alimentar como é o caso da contaminação de pescado e moluscos bivalves por toxinas produzidas por microalgas – as ficotoxinas. A contaminação dos organismos cultivados em fazendas marinhas pode comprometer a viabilidade do desenvolvimento da produção e gerar a contaminação de outros organismos da cadeia trófica. Com a expectativa de crescimento dessa atividade em regiões litorâneas, torna-se necessário o monitoramento regular do fitoplâncton de forma a garantir a qualidade do produto cultivado no mercado. Neste estudo são apresentados os aspectos sobre o cultivo de moluscos e as principais síndromes ocasionadas por ficotoxinas acumuladas em moluscos bivalves – síndrome paralisante de moluscos (PSP), síndrome diarreica de moluscos (DSP), síndrome amnésica (ASP), síndrome neurotóxica (NSP), síndrome por consumo de azaspirácidos (AZP) e a síndrome do venerupino (VSP). Apresentamos também a legislação brasileira pertinente ao assunto e algumas dificuldades na execução de programa de monitoramento de algas nocivas em fazenda de maricultura da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ. Apontamos para a importância da realização de um monitoramento regular do fitoplâncton nessa área de cultivo para a detecção de síndromes associadas à contaminação por microalgas potencialmente tóxicas, pois, estudos em extratos obtidos de mexilhões *Perna perna* cultivados em fazenda de maricultura de Arraial do Cabo entre janeiro de 2013 e maio de 2014, mostram a ocorrência de espécies de dinoflagelados potencialmente tóxicos e o resultado positivo para DSP no mês de janeiro de 2014 pode estar relacionado à presença dessas espécies, o que pode comprometer a produção e causar danos econômicos a produtores ou extratores além da contaminação de consumidores finais desses produtos.

Palavras-chaves: Monitoramento. Ficotoxinas. Mexilhão. Arraial do Cabo.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1

Quadro 1.	Métodos para determinação da concentração de toxinas, adaptado da Portaria nº 204/2012	16
Figura 1.	Área da fazenda de maricultura	18

ARTIGO 2

Figura 1.	Área da fazenda marinha	34
Figura 2.	Temperatura (°C)	37
Figura 3.	Contribuição total (%) dos grupos taxonômicos	39
Figura 4.	Contribuição mensal (%) dos grupos taxonômicos mais representativos	40
Figura 5.	Índices de diversidade das espécies de fitoplâncton nos meses de coleta (d = riqueza de Margalef, H' = diversidade de Shannon, J' = equitabilidade)	41
Figura 6.	Análise de Similaridade de Bray Curtis	42
Figura 7.	Dendograma da classificação do fitoplâncton nos meses de coleta	43

LISTA DE TABELAS**ARTIGO 2**

Tabela 1.	Amplitude de marés	37
Tabela 2.	Total de gêneros distribuídos em suas respectivas classes	38
Tabela 3.	Densidade celular mensal (cél.L ⁻¹) do fitoplâncton total	39
Tabela 4.	Índices de diversidade das espécies de fitoplâncton nos meses de coleta (d = riqueza de Margalef, J' = equitabilidade, H' = diversidade de Shannon)	41
Tabela 5.	Densidade celular do fitoplâncton potencialmente tóxico (cél.L ⁻¹) em meses de ocorrência.	44
Tabela 6.	Toxicidade em extratos de mexilhão <i>P. perna</i> no período de coleta	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**ARTIGO 1**

ACRIMAC	ASSOCIAÇÃO DOS COLETORES E CRIADORES DE MARISCOS DE ARRAIAL DO CABO
AD	ÁCIDO DOMOICO
AO	ÁCIDO OCADAICO
APAC	ASSOCIAÇÃO DOS PESCADORES DE ARRAIAL DO CABO
AQUACEN	LABORATÓRIO OFICIAL CENTRAL DO MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA
AREMAC	ASSOCIAÇÃO DA RESERVA EXTRATIVISTA DE ARRAIAL DO CABO
ASP	AMNESIC SHELLFISH POISONING
AZP	AZASPIRACID POISONING
BTX	BREVETOXINAS
CIDASC	COMPANHIA INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA
CLAE	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA
CNCMB	COMITÊ NACIONAL DE CONTROLE HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE MOLUSCOS BIVALVES
DSP	DIARRHETIC SHELLFISH POISONING
DTX	DINOFISISTOXINA
FAO	FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION
FIPERJ	FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
GEOHAB	GLOBAL ECOLOGY AND OCEANOGRAPHY OF HARMFUL ALGAL BLOOMS
HAB	HARMFUL ALGAL BLOOM
HPLC	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE
HPLC-FLD	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR FLUORESCÊNCIA

IBAMA	INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
ICMBio	INSTITUTO CHICO MENDES DE BIODIVERSIDADE
IBGE	INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
IEAPM	INSTITUTO DE ESTUDOS DO MAR ALMIRANTE PAULO MOREIRA
IFSC	INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA
IFF	INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA FLUMINENSE
INEM	INSTITUTO NACIONAL DE ESTUDOS DO MAR
INI	INSTRUÇÃO NORMATIVA INTERMINISTERIAL
IPQM	INSTITUTO DE PESQUISAS DA MARINHA
IOC	INDIAN OCEAN COMMISSION
LAQUA	LABORATÓRIO OFICIAL DO MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA
LEMAM	LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA E MICROBIOLOGIA AMBIENTAL
LC-MS/MS	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA
MAPA	MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
MODIS-FLH	LINHA DE ALTURA DE FLUORESCÊNCIA
MPA	MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE
PNCMB	PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE MOLUSCOS BIVALVES
pH	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO
PSP	PARALYTIC SHELLFISH POISONING
PVC	POLICLORETO DE POLIVINILA
RENAQUA	REDE NACIONAL DE LABORATÓRIOS DO MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA
RESEXMAR	RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA
RJ	RIO DE JANEIRO
RPM	ROTAÇÕES POR MINUTO

SEBRAE	SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS
SNUC	SISTEMA NACIONAL DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO
SOFIA	THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE
STX	SAXITOXINA
UEMA	UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
UFMG	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
UNIVALI	UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ
VSP	VENERUPINE SHELLFISH POISONING
WHO	WORLD HEALTH ORGANIZATION
YTX	YESSOTOXINAS

ARTIGO 2

AO	ÁCIDO OCADAICO
<i>Compl.</i>	COMPLEXO
DHN	DIRETORIA DE HIDROGRAFIA E NAVEGAÇÃO
DSP	DIARRHETIC SHELLFISH POISONING
DTX _s	DINOFISISTOXINAS
FAN _s	FLORAÇÕES DE ALGAS NOCIVAS
HAB	HARMFUL ALGAL BLOOM
IBGE	INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
IEAPM	INSTITUTO DE ESTUDOS DO MAR ALMIRANTE PAULO MOREIRA
IFF	INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO FLUMINENSE
pH	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO
PSP	PARALYTIC SHELLFISH POISONING
RESEXMAR	RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA
RJ	RIO DE JANEIRO
RPM	ROTAÇÃO POR MINUTO
STX	SAXITOXINA

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	Nanômetro
%	Porcentagem
®	Marca registrada
$\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$	Acetona
d	Índice de Margalef
H'	Índice de diversidade específica de Shannon-Wiener
ha	Hectare
HCl	Ácido clorídrico
J'	Equitabilidade
Km	Quilômetro
m	Metro
mL	Mililitro
N	Molaridade
NE	Nordeste
O	Oeste
$^{\circ}\text{C}$	Graus centígrados
pH	Potencial hidrogeniônico
RPM	Rotação por minuto
S	Sul
<i>spp</i>	Espécies
s/n ^o	Sem número
W	Oeste
cél. L ⁻¹	Células por litro
mg	Miligrama (mg) = 10^{-3} g
mg.Kg ⁻¹	Miligrama por quilo
$\mu\text{g.g}^{-1}$	Micrograma (μg) = 10^{-6} g
ng.g^{-1}	Nanograma (ng) = 10^{-9} g

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
LISTA DE SÍMBOLOS	xii
Artigo científico 1	3
Cultivo de moluscos bivalves: algas nocivas e bases para programa de monitoramento de ficotoxinas em fazenda de maricultura de Arraial do Cabo, RJ.	
RESUMO	3
ABSTRACT	4
INTRODUÇÃO	5
Aspectos da produção de moluscos bivalves	5
Principais ficotoxinas e síndromes de intoxicação envolvidas no cultivo de moluscos bivalves	6
Florações de algas nocivas e programas de monitoramento ambiental	12
Monitoramento e legislação no Brasil	14
Área envolvida na proposta: Enseada do Forno – Arraial do Cabo/RJ	17
Aspectos gerais sobre o cultivo de moluscos em Arraial do Cabo	19
Considerações sobre a implantação de um programa de monitoramento de ficotoxinas na RESEXMAR de Arraial do Cabo	20
CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
AGRADECIMENTOS	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
Artigo científico 2	29
Avaliação da toxicidade para PSP e DSP em mexilhões <i>Perna perna</i> (Linnaeu, 1758) e monitoramento fitoplanctônico em fazenda de maricultura da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ.	
RESUMO	29
ABSTRACT	30
INTRODUÇÃO	31
MATERIAL E MÉTODOS	33
A área de estudo	33
Temperatura de maré	34

Amostragem e análise de fitoplâncton	35
Amostragem de mexilhões	35
Ensaio biológico de toxinas PSP	35
Ensaio biológico de toxinas DSP	36
Análises estatísticas	36
RESULTADOS	37
DISCUSSÃO	46
CONCLUSÃO	49
AGRADECIMENTOS	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

APRESENTAÇÃO

O município de Arraial do Cabo está localizado no litoral fluminense do estado do Rio de Janeiro. Esse município contempla uma Reserva Extrativista Marinha – RESEXMAR. Nas reservas extrativistas marinhas a base da subsistência das populações litorâneas está na pesca artesanal, bem como no cultivo de moluscos e crustáceos. Atualmente o município possui três fazendas de maricultura para cultivo de moluscos bivalves (ostras, mexilhões e vieiras) que pertencem a associações de pescadores e maricultores locais que se beneficiam da renda gerada pela comercialização desse produto.

Na maricultura qualquer contaminação pode comprometer a viabilidade do desenvolvimento da atividade, bem como pode gerar a contaminação dos consumidores finais desses animais. A expectativa de crescimento dessa atividade torna necessário o controle sanitário dos organismos cultivados de forma a garantir a qualidade do produto no mercado.

O mexilhão *Perna perna* vem sendo utilizado nos países do hemisfério norte como organismo sentinela em programas de monitoramento de poluição marinha e teste de ecotoxicidade desde a década de 60. (KRISHNAKUMAR *et al.*, 2006; RESGALLA JR.; MORAES, 2008; FERREIRA *et al.*, 2013). Esse fato se deve à sua capacidade de acumular contaminantes do ambiente em que vive uma vez que são organismos filtradores que se alimentam, entre outras coisas, de organismos planctônicos e de matéria orgânica particulada (MARINÉ *et al.*, 2009; ALVES *et al.*, 2010).

Dentre os marcadores de contaminação desses animais estão as toxinas produzidas pelo fitoplâncton – as ficotoxinas, sendo estas o objeto deste estudo. A ingestão de microalgas potencialmente tóxicas por moluscos cultivados nessas fazendas pode levar ao acúmulo de ampla variedade de ficotoxinas causadoras nos consumidores desses animais contaminados, da síndrome paralisante (PSP – *Paralytic Shellfish Poisoning*), síndrome diarreica (DSP – *Diarrheic Shellfish Poisoning*), síndrome amnésica (ASP – *Amnesic Shellfish Poisoning*), síndrome neurotóxica (NSP – *Neurotoxic Shellfish Poisoning*), síndrome por consumo de azaspirácidos (AZP – *Azaspiracid Shellfish Poisoning*) e a síndrome do venerupino (VSP – *Venerupine Shellfish Poisoning*).

A intoxicação por toxinas causadoras da PSP pode causar morte de várias pessoas durante uma ocorrência (SCHRAMM *et al.*, 2006). As toxinas causadoras de DSP podem dar origem a quadros patológicos menos graves, porém provocam efeitos negativos no campo comercial com a queda das vendas de diferentes produtos que muitas vezes nada tem a ver com

o problema, como peixes e crustáceos em geral. A falta de monitoramento dessas ficotoxinas pode provocar consequências diretas na indústria de pesca, turismo e saúde pública.

Neste trabalho, propomos no Artigo 1 um programa permanente de monitoramento visando uma interferência preventiva no planejamento do município de Arraial do Cabo quanto aos projetos de saúde pública voltados para este campo. Apresentamos os principais aspectos sobre o cultivo de moluscos, as principais síndromes ocasionadas por ficotoxinas acumuladas em moluscos bivalves e a legislação brasileira pertinente ao tema. No Artigo 2 apresentamos o resultado da análise dos extratos obtidos dos moluscos bivalves do gênero *Perna perna* cultivados em fazenda de maricultura de Arraial do Cabo no período de janeiro de 2013 a maio de 2014, para avaliar a ocorrência de toxinas paralisantes (PSP) e a detecção de ficotoxinas lipofílicas causadoras da síndrome diarreica (DSP) na carne desses animais através de bioensaio em camundongos.

Diante das informações apresentadas nestes dois estudos, torna-se indispensável e fundamental a realização de monitoramento permanente da atividade de maricultura nas fazendas marinhas de Arraial do Cabo, para desta forma, estabelecer parâmetros de consumo sadio dessa espécie de mexilhão e planos de ação em saúde pública em caso de contaminação por teores de ficotoxinas acima do permitido na legislação brasileira e internacional.

ARTIGO CIENTÍFICO 1

CULTIVO DE MOLUSCOS BIVALVES: ALGAS NOCIVAS E BASES PARA PROGRAMA DE MONITORAMENTO DE FICOTOXINAS EM FAZENDA DE MARICULTURA DE ARRAIAL DO CABO, RJ.

Daniela Almeida de SOUZA^{1*}, Guilherme Búrigo ZANETTE², Maria Helena Campos BAETA NEVES³, Mathias Alberto SCHRAMM⁴, Luis Antônio de Oliveira PROENÇA⁴, e Manildo Marcião de OLIVEIRA^{1*}

¹*Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental (LEMAM). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Fluminense (IFF). Estrada Cabo Frio-Búzios s/nº - Baía Formosa - Cabo Frio/RJ- CEP 28909-97. *Autores correspondentes: danielabio@hotmail.com/mmoliveira@iff.edu.br.*

²*Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ). Praça Fonseca Ramos s/nº Terminal Rodoviário Roberto Silveira, sobreloja - Niterói/RJ. CEP 24030-020.*

³*Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM). Rua Kioto, nº 253 - Praia dos Anjos - Arraial do Cabo/RJ - CEP 28930-000.*

⁴*Laboratório de Pesquisa e Monitoramento de Algas Nocivas e Ficotoxinas – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC). Rua Tijucas, nº 55 - Centro - Itajaí/SC - CEP 88301-306.*

RESUMO

A aquicultura, que consiste principalmente no cultivo de peixes, moluscos, algas e crustáceos é uma atividade de longa data, geralmente com objetivos comerciais onde qualquer contaminação pode comprometer a viabilidade do desenvolvimento da produção bem como, pode gerar a contaminação dos consumidores finais. Com a expectativa de crescimento da atividade de maricultura em regiões produtivas, torna-se necessário o controle higiênico-sanitário desses organismos de forma a garantir a qualidade do produto no mercado. Dentre os contaminantes desses animais destacam-se as ficotoxinas – toxinas produzidas por microalgas. Apresentamos neste estudo aspectos sobre o cultivo de moluscos, as síndromes ocasionadas pelas principais ficotoxinas acumuladas em moluscos bivalves, estudos sobre monitoramento

de algas nocivas realizados em outros países, nossa legislação pertinente ao assunto e finalizamos apontando algumas dificuldades na execução de programa de monitoramento de algas nocivas na região de estudo. Para o futuro da aquicultura na região será necessária a apropriação destas informações que foram abordadas neste trabalho, além de ações coordenadas entre o governo e os aquicultores, para que possam agir de forma a controlar a produção de moluscos bivalves. É de fato um consenso de que há necessidade de implementar um programa de monitoramento de ficotoxinas em fazendas de maricultura no município de Arraial do Cabo / RJ.

Palavras-chave: Maricultura. Ficotoxinas. Monitoramento. Legislação

ABSTRACT

CULTIVATION OF BIVALVE MOLLUSCS: HARMFUL ALGAE AND BASIS FOR MONITORING PHYCOTOXINS PROGRAM IN THE MARINE FARM OF ARRAIAL DO CABO, RJ

Aquaculture, which consists mainly of the cultivation of fishes, molluscs, algae and crustaceans is a longstanding activity, usually for commercial purposes where contamination can jeopardize the viability of the development of production and may generate contamination of final consumers. With the expected growth of mariculture activity in productive regions, becomes necessary the hygienic-sanitary control of those bodies in order to ensure product quality in the market. Among the contaminants of these animals stand out the phycotoxins - toxins produced by microalgae. Presented in this study are the aspects on the cultivation of molluscs, the major syndromes caused by phycotoxins accumulated in bivalve molluscs, studies on harmful algae monitoring conducted in other countries, the Brazilian legislation relevant to the subject and we emphasize some difficulties in implementing the monitoring program harmful algae in the study region. For the future the aquaculture in the region will be needed the appropriation of these information that has been approached in this work, in addition to coordinate actions between the government and fish farmers so that they can act to control the quality of production of bivalve molluscs. It is indeed a consensus that there is need to implement a monitoring program of phycotoxins mariculture farms in the municipality of Arraial do Cabo / RJ.

Keywords: Mariculture. Phycotoxins. Monitoring. Legislation.

INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas temos presenciado o caloroso debate sobre a pesca e a aquicultura, envolvendo ações governamentais que viabilizassem as duas atividades de maneira sustentável. Com a criação do Ministério da Pesca e Aquicultura, pela Lei nº 11.958, de 28 de junho de 2009, o país vem qualificando progressivamente o setor com políticas voltadas para o ordenamento, gestão e fomento. Neste contexto, não se deve perder de vista o caráter social envolvido com a atividade que deve ter uma abordagem baseada na economia solidária (SOUTO, 2012). A qualificação profissional e desenvolvimento socioeconômico e cultural dos atores envolvidos denotam para as abordagens comunitárias e locais. Deste modo, o estudo levanta a questão do cultivo de moluscos e as principais ficotoxinas que ameaçam a atividade nas fazendas de maricultura em Arraial do Cabo, RJ. Desta forma, o objetivo é contribuir com os programas de monitoramento de ficotoxinas que deverão ser implementados no local e que atendam às necessidades da atividade e as normas sanitárias que regulamentam o setor.

Aspectos da produção de moluscos bivalves

O aumento da produção de pescados a nível mundial para o abastecimento do mercado consumidor tem como base o desenvolvimento da aquicultura (cultivo de organismos aquáticos), uma vez que o volume de produção da pesca extrativista encontra-se há anos praticamente estagnado. Entre as décadas de 1980 e 2012 a produção da aquicultura mundial cresceu quase 12 vezes a uma taxa média de 8,6% ao ano (FAO, 2014). Neste cenário, os moluscos de cultivo integraram o segundo grupo mais representativo em termos de volume de produção, com 22,8% da produção, equivalendo a 15,17 milhões de toneladas (FAO, 2014). Em relação apenas aos organismos marinhos cultivados, sua importância se destaca, pois representam 60,3% da produção, seguido de peixes de barbatanas (22,5%), crustáceos (15,8%) e outros animais aquáticos (1,35%) (FAO, 2014).

No Brasil, a produção de moluscos bivalves passou de 12,9 mil toneladas para 18,5 mil toneladas entre os anos 2000 e 2011, representando um crescimento de 43,4% neste período (IBAMA, 2000; MPA, 2013). Os principais Estados que se destacam são Santa Catarina e Rio de Janeiro e as principais espécies cultivadas são: o mexilhão *Perna perna*, com 86,2% da produção nacional, seguida pela ostra do pacífico *Crassostrea gigas* com 13,6% da produção (MPA, 2013).

O cultivo de moluscos é considerado uma atividade de grande importância para o desenvolvimento regional e local, tendo em vista seu alcance social e econômico às

comunidades e populações litorâneas (MARQUES, 1998; FERREIRA; MAGALHÃES, 2004). Além disso, esta atividade tem se mostrado uma opção para pescadores que têm sofrido com a diminuição dos estoques pesqueiros, se tornando uma importante geradora de emprego, renda e inclusão social (ROSA, 1997).

No Estado do Rio de Janeiro o cultivo de moluscos desenvolve-se principalmente nos municípios de Angra dos Reis e Arraial do Cabo, mas também possuem cultivos os municípios de Niterói, Paraty, Mangaratiba, Armação dos Búzios, dentre outros. No caso de Arraial do Cabo, a maricultura está localizada em área de Reserva Extrativista Marinha – RESEXMAR. Essa reserva, criada através de decreto presidencial s/nº em 03 de janeiro de 1997, inclui uma faixa marinha de três milhas da costa em direção ao mar e 56.769 ha de lâmina d'água (FONSECA-KRUEL; PEIXOTO, 2004).

Quanto ao desenvolvimento do cultivo de moluscos, tanto em áreas de RESEXMAR quanto em locais fora de reservas, deve-se atender a um conjunto de normas que visam à qualidade e o controle higiênico-sanitário dos organismos cultivados. Além do controle na implantação da produção, o monitoramento do cultivo de moluscos é uma ferramenta importante para a caracterização e o gerenciamento dos riscos à saúde pública decorrentes do possível consumo de mexilhões, vieiras e ostras contaminados por toxinas marinhas produzidas por microalgas tóxicas presentes no fitoplâncton (MPA, 2012).

Principais ficotoxinas e síndromes de intoxicação envolvidas no cultivo de moluscos bivalves

Biotoxinas marinhas são compostos produzidos naturalmente. O termo ficotoxinas indica metabólitos naturais produzidos por microalgas unicelulares (protoctistas). A maioria das ficotoxinas é produzida por dinoflagelados embora cianobactérias sejam relatadas por produzir a saxitoxina (STX), e o ácido domoico (AD) é produzido por diatomáceas (VALE, 2004; WIESE *et al.*, 2010).

As intoxicações mais conhecidas e que podem afetar a saúde humana são nomeadas segundo os sintomas experimentados pelos seres humanos, sendo as principais, a síndrome paralisante ou envenenamento paralisante por moluscos (PSP – Paralytic Shellfish Poisoning), a síndrome diarreica ou envenenamento diarreico por moluscos (DSP – Diarrheic Shellfish Poisoning), a síndrome amnésica ou envenenamento amnésico por moluscos (ASP – Amnesic Shellfish Poisoning), a síndrome neurotóxica ou envenenamento neurológico por moluscos (NSP – Neurotoxic Shellfish Poisoning), a síndrome por consumo de azaspirácidos (AZP –

Azaspiracid Shellfish Poisoning) e a síndrome do venerupino (VSP – Venerupine Shellfish Poisoning) (HALLEGRAEFF, 2003; BARBIERI, 2009; CASTRO; MOSER, 2012).

A intoxicação paralisante ou envenenamento paralisante por moluscos – PSP (Paralytic Shellfish Poisoning), é causada pelas toxinas chamadas saxitoxinas (STXs) atualmente consideradas as mais poderosas toxinas marinhas (WIESE *et al.*, 2010; CASTRO; MOSER, 2012). Não há antídoto para a toxina, que pode ser fatal para o homem em pequenas doses, sendo a respiração artificial o único tratamento disponível (HALLEGRAEFF *et al.*, 1995; WIESE *et al.*, 2010). Além delas, mais de vinte outros congêneres podem causar a PSP, sendo geralmente hidrossolúveis e termoestáveis (CASTRO; MOSER, 2012).

A maioria dos países, incluindo o Brasil, utiliza um fator de tolerância de 0,8 mg STX eq/Kg⁻¹ de carne de mexilhões (PROENÇA; SCHRAMM, 2013). O método para determinar toxinas da PSP mais largamente usado no momento é o bioensaio com camundongos, com um limite de detecção de aproximadamente 0,4 mg STX eq/Kg⁻¹ (FAO, 2005).

Os sintomas variam sendo nos primeiros 30 minutos sensação de formigamento ou dormência ao redor dos lábios, gradualmente espalhando-se no rosto e pescoço e pelas extremidades, dor de cabeça, tonturas, náuseas, vômitos e diarreia. Podem ocorrer ainda paralisia muscular, dificuldade respiratória acentuada, sensação de asfixia e morte por parada respiratória, que ocorre em média de 2 a 12 horas após a ingestão do alimento contaminado (HALLEGRAEFF, 2003; BRASIL, 2012b).

Eventualmente espécies de algas produtoras de saxitoxina e seus congêneres ocorrem em abundância suficiente para contaminar moluscos de cultivo (SCHRAMM *et al.*, 2006). Estudos realizados no Brasil mostram que as ficotoxinas paralisantes contaminam a carne de mexilhões *Perna perna* e estes são depurados rapidamente, quando ocorre a redução da floração de algas nocivas (PROENÇA *et al.*, 1999; SCHRAMM; PROENÇA, 2008).

A PSP está normalmente relacionada à presença de espécies do gênero *Alexandrium*, tais como: *A. catenella*, *A. acatenella*, *A. andersonii*, *A. cohorticula*, *A. excavatum*, *A. fraterculus*, *A. fundyense*, *A. minutum* e *A. tamarense*, como também, *Gymnodinium catenatum* e *Pyrodinium bahamense var. compressum* (HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012). Além dessas espécies, algumas cianobactérias tais como *Aphanizomenon flos-aquae*, podem contribuir para a produção da toxina (CASTRO; MOSER, 2012).

Até o momento, o único organismo marinho identificado como produtor de ficotoxinas da PSP no Brasil foi *Gymnodinium catenatum*, responsável por contaminar mexilhões *Perna perna* em Santa Catarina (SCHRAMM *et al.*, 2006).

A DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning), foi descoberta primeiramente no Japão em 1976 (YASUMOTO *et al.*, 1978) e sua ocorrência em áreas de cultivo ou de extração de moluscos filtradores, representa um risco a saúde pública podendo comprometer a produção e causar danos econômicos a produtores ou extratores. A síndrome diarreica ou envenenamento diarreico por moluscos é causada por um grupo de toxinas lipofílicas (BRASIL, 2012b), produzidas principalmente por alguns dinoflagelados dos gêneros *Prorocentrum* e *Dinophysis* e são acumuladas nos tecidos dos moluscos durante o processo de filtração.

Essas toxinas são divididas em diferentes grupos, dependendo da estrutura química. O primeiro grupo inclui o ácido ocadaico (AO) e seus derivados incluindo as dinofisistoxinas (DTXs), o segundo grupo é formado pelas yessotoxinas (YTXs) e o terceiro pelas pectenotoxinas (PTXs). No entanto, apenas o grupo do AO e seus derivados incluídas as DTXs é considerado promotor da síndrome diarreica. As outras toxinas são consideradas isoladamente, uma vez que sua ação não envolve os sintomas descritos para a síndrome (PAZ *et al.*, 2008; CASTRO; MOSER, 2012). O AO é um inibidor potente de uma classe de enzimas – as proteínas fosfatases do tipo PP1 e PP2A e leva à acumulação na célula de proteínas hiperfosforiladas, alterando numerosos processos metabólicos (VALE, 2004; FRANCHINI *et al.*, 2010). Yessotoxinas não causam diarreia ou inibição de proteínas fosfatases (PAZ *et al.*, 2008). Ainda assim, a legislação brasileira estabelece a referência de 1,0 mg equivalentes de yessotoxina por quilograma de parte comestível dos moluscos (1,0 mg YTX eq/Kg⁻¹) (BRASIL, 2012b; PROENÇA; SCHRAMM, 2013), enquanto que o valor estabelecido pela legislação internacional é de 3,75 mg YTX eq/Kg⁻¹ (DO/UE, 2013). Regulamentos europeus e a legislação brasileira adotam valores máximos de AO conjuntamente com DTXs e PTXs de 0,16 mg AO eq/Kg⁻¹ de tecido comestível (FAO, 2005; BRASIL, 2012b; PROENÇA; SCHRAMM, 2013).

Entre as principais espécies associados à DSP são descritas espécies do gênero *Dinophysis*: *D. acuta*, *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. norvegica*, *D. mitra*, *D. rotundata*, *D. sacculus*, *D. hastata* e *D. tripos*; espécies do gênero *Prorocentrum*: *P. lima*, *P. arenarium*, *P. belizeanum*, *P. concavum*, *P. maculosum*, e *P. redfieldi* e as espécies *Gonyaulax polyhedra*, *Phalacroma rotundatum*, *Protoceratium reticulatum*, *Protoperidinium oceanicum*, *Protoperidinium pellucidum*. (HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012).

A ingestão de moluscos contaminados com AO produz, na intoxicação aguda, distúrbios gastrointestinais como vômitos, náuseas, diarreia e dor abdominal. A diarreia pode surgir em média no intervalo entre 30 minutos até poucas horas após o consumo de moluscos contaminados. Raramente o quadro clínico manifesta-se passadas mais de 12 horas. Sua

frequência pode ser de 10 a 20 vezes por dia, nos casos graves. Os sintomas cessam, em geral, ao final de três dias (YASUMOTO *et al.*, 1978).

O consumo regular de mexilhões contaminados por AO pode promover tumores no sistema digestório humano após exposição prolongada (HALLEGRAEFF, 2003; MARINÉ *et al.*, 2009).

No Brasil, a presença de fitoplâncton produtor de AO ou seus derivados foi bem documentada por PROENÇA *et al.* (2007) em estudo no litoral de Santa Catarina, onde o dinoflagelado *Dinophysis cf. acuminata* estava presente nas amostras coletadas de água marinha ($4,0 \times 10^2$ cél.L⁻¹) e os extratos obtidos de mexilhões *Perna perna* apresentaram resultado positivo para DSP em bioensaio com camundongos. Lourenço *et al.* (2007) encontraram baixos valores de AO (2,65 ng.g⁻¹ de hepatopâncreas) em uma amostra (março de 2004) de mexilhões cultivados em Ilha Grande, município de Angra dos Reis/RJ, associado a presença de *Dinophysis cf. acuminata*, mas não relatando resultados positivos nas coletas dos meses subsequentes (abril e maio de 2004). Os autores sugerem a ocorrência de autodepuração natural dos moluscos bivalves. Em outro estudo na mesma área citada acima, analisando amostras de mexilhões entre maio e outubro de 2006, encontrou-se valores mais altos de AO (entre 0,2 e 8,54 µg.g⁻¹ de hepatopâncreas) de mexilhões *Perna perna* (MARINÉ *et al.*, 2010).

A ASP (Amnesic Shellfish Poisoning), síndrome amnésica ou envenenamento amnésico por moluscos, pode provocar náuseas, vômitos, diarreias, cólicas, alucinações e perda de memória (amnésia) após 3 ou 5 horas do consumo de moluscos contaminados (HALLEGRAEFF, 2003). Causada pelo ácido domoico (AD), é caracterizada também por uma síndrome de neuropatia sensório-motora axonal (fraqueza muscular e reflexos sensoriais ausentes), convulsões, coma e morte (BRASIL, 2012b). As espécies de diatomáceas do gênero *Compl. Pseudo-nitzschia*: *P. multiseriata*, *P. pungens*, *P. pseudodelicatissima*, *P. australis*, *P. seriata*, *P. delicatula*, *P. cuspidata*, *P. fraudulenta*, *P. multistriata*, e *P. turgidula* e as espécies *Amphora coffeaeformis*, *Nitzschia navis-varingica*, são responsáveis pela produção do ácido domoico (HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012).

Em 2008, estudos realizados em Santa Catarina mostraram que o ácido domoico foi encontrado apenas em 3% das amostras de mexilhão e em concentrações 50 vezes abaixo do limite máximo permitido em legislação internacional e brasileira, que é de 20 mg AD eq/Kg⁻¹ (SCHRAMM; PROENÇA, 2008). Em 2009, pela primeira vez, a colheita foi interrompida no Estado de Santa Catarina pela ocorrência de AD durante o verão em concentrações superiores à 20 mg AD eq/Kg⁻¹. Embora ostras e mexilhões tenham sido afetados, não houve casos

registrados de intoxicação (PROENÇA; SCHRAMM, 2013). Não há tratamento específico para as vítimas de ASP e a intoxicação em alguns casos, pode ser letal (HALLEGRAEFF *et al.* 1995).

A síndrome neurotóxica ou envenenamento neurológico por moluscos - NSP (Neurotoxic Shellfish Poisoning) é gerada pela síntese de brevetoxinas (BTX), por espécies do gênero *Karenia*: *K. brevis* (anteriormente chamado *Gymnodinium breve* e *Ptychodiscus brevis*), *K. papilionacea*, *K. selliformis* e *K. bigititata* (HALLEGRAEFF, 2003). As brevetoxinas são poliéteres lipossolúveis e termoestáveis (CASTRO; MOSER, 2012). Ocasionalmente causam distúrbios respiratórios com sintomas semelhantes a asma, incluindo broncoespasmos, redução da frequência respiratória, distúrbios cardíacos e diminuição da temperatura corporal, calafrios, dor de cabeça, diarreia, fraqueza, dores musculares, câibras, dores articulares, náuseas, convulsões, vômitos e coma (HALLEGRAEFF, 2003; FAO/IOC/WHO, 2004; EFSA, 2010).

NSP parece estar limitada ao Golfo do México, à costa leste dos Estados Unidos da América (EUA), e à Nova Zelândia na região do Golfo Hauraki. No entanto, a descoberta de novos grupos de algas produtoras de BTX e a tendência constatada para a expansão da distribuição das florações algais sugerem que toxinas do grupo BTX estão surgindo em outras regiões do mundo (EFSA, 2010).

Atualmente não há regras sobre toxinas do grupo BTX em marisco ou peixe na Europa. No entanto, alguns países de outras regiões do mundo estabeleceram níveis de ação ou níveis máximos de toxinas do grupo BTX em marisco. Nos EUA, o nível de ação é de 20 unidades de mouse (MUs)/100 g (0,8 mg BTX 2 eq/Kg⁻¹). Na Nova Zelândia e Austrália, o nível máximo é de 20 MUs/100 g, mas o análogo BTX não é especificado (EFSA, 2010). A gestão de risco que se realiza atualmente nos estados costeiros do Golfo do México se baseia também no fechamento dos cultivos de marisco a valores de 5.000 cél./L⁻¹ de *K. brevis* sendo reaberto quando as taxas nos mariscos são inferiores a 0,8 mg BTX eq/Kg⁻¹ (FAO, 2005).

O envenenamento azaspirácido de moluscos, AZP (Azaspiracid poisoning) é uma descoberta recente e causada pelo consumo de azaspirácido produzido pelo dinoflagelado *Azadinium spinosum*. Os azaspirácidos (AZAs) são toxinas marinhas lipofílicas, poliéteres que se acumulam em diferentes espécies de moluscos e têm sido associados a intoxicações gastrointestinais em seres humanos desde 1995 quando houve um surto na Holanda após o consumo de mexilhões provenientes da Irlanda onde casos de intoxicação por AZA já havia sido relatados (TWINER *et al.*, 2008). O AZA já foi detectado em moluscos bivalves da Inglaterra, Noruega e França (VALE, 2004).

Apresenta como principais compostos os azaspirácidos 1 a 3 – AZA 1, AZA 2 e AZA 3 (CASTRO; MOSER, 2012). O envenenamento azaspirácido tem sido confundido com a DSP

devido à similaridade dos sintomas apresentados em humanos podendo resultar em sintomas agudos graves que incluem náuseas, vômitos, calafrios, diarreia severa e cólicas estomacais. As concentrações entre 23 e 86 mg/pessoa são citadas como suficientemente tóxicas para o homem (FAO, 2004). No entanto, acredita-se que azaspirácido seja muito mais tóxico do que o ácido ocadaico, a principal causa de DSP. A legislação internacional e brasileira tem adotado os mesmos valores determinados para DSP – 0,16 mg AZA eq/Kg⁻¹ de carne (AZA 1) (PROENÇA; SCHRAMM, 2013; BRASIL, 2012b; FAO, 2005).

Devido aos dados disponíveis limitados, a partir de muitos dos eventos AZP, quase todas as informações relativas à toxicologia de AZA foram obtidas por meio do controle *in vitro* e *in vivo* (TWINER *et al.*, 2008). Estudos *in vivo* têm mostrado efeitos não somente em relação ao trato intestinal, mas em tecidos linfóides e células do sistema imune. Sabe-se que o azaspirácido e seus análogos não são encontrados apenas no hepatopâncreas dos moluscos cultivados (CASTRO; MOSER, 2012).

A intoxicação por venerupino(a) ou VSP (Venerupine Shellfish Poisoning), constitui um sério problema de saúde pública em certas regiões do Japão, Golfo do México e Flórida com registros de contaminação de moluscos (BARBIERI, 2009; MIOTTO; TAMANAHA, 2012). A venerupina é uma substância produzida por variedades do dinoflagelado *Prorocentrum minimum*, encontrado em águas salobras, frias, temperadas a tropicais (MIOTTO; TAMANAHA, 2012). O VSP ocasiona no homem um quadro hemorrágico (nasal, digestivo e cutâneo) e hepatotóxico (encefalopatia) (PINILLOS *et al.*, 2003). A manifestação da intoxicação se dá após um período de 24 a 48 horas, com anorexia, halitose, náuseas, vômitos, dores gástricas, constipação e dores de cabeça. Esse quadro pode complicar-se porque o paciente fica inquieto, aumentando a hematemesa e o sangramento das mucosas oral e nasal. Em casos graves podem ocorrer icterícia, petéquias e enquimoses, e, nos letais, lesão hepática aguda, excitação extrema, delírio e coma (BARBIERI, 2009). Para as últimas três ficotoxinas relatadas não temos registros de intoxicação no Brasil.

Até o ano de 2003 eram registrados em uma escala global perto de 2000 (dois mil) casos de intoxicações humanas, provocados pelo consumo de peixe ou marisco contaminado. Destes, aproximadamente 15% resultavam em mortes. Muitas destas mortes provocadas pelas síndromes relacionadas às toxinas de algas (HALLEGRAEFF, 2003). A ocorrência de inúmeros episódios de intoxicação humana grave, levou as autoridades de muitos países, a implementarem medidas de prevenção, tais como o monitoramento de toxinas nos bivalves e a regulamentação dos respectivos níveis de tolerância (VIEGAS, 2009). No Brasil, temos como exemplo o Estado de Santa Catarina onde há casos registrados segundo dados do Sistema de

Informação de Agravos de Notificação da Secretaria Estadual de Saúde. Segundo este sistema, no ano de 2007, 13 pessoas foram intoxicadas em Imbituba e 130 pessoas sofreram intoxicação alimentar no mesmo período do ano em Bombinhas, distante 120 Km da primeira ocorrência (SCHRAMM; PROENÇA, 2008).

As algas planctônicas microscópicas dos oceanos são alimento fundamental para moluscos bivalves filtradores, sendo na maioria dos casos, benéfica a aquicultura (HALLEGRAEFF, 2003). Chamamos a atenção para os efeitos negativos na saúde humana de uma floração de algas tóxicas em área de cultivo dos organismos marinhos onde não haja o monitoramento. A exemplo do Estado de Santa Catarina, é importante ressaltar que a produção, associada a um programa de monitoramento de biotoxinas marinhas fortalece a importância do setor aquícola do país, que encontra-se em crescimento.

Florações de algas nocivas e programas de monitoramento ambiental

Moluscos bivalves são filtradores e se alimentam principalmente de fitoplâncton captado da corrente de água gerada pelos batimentos dos cílios de suas brânquias (FERREIRA; MAGALHÃES, 2004). Quando microalgas produtoras de toxinas encontram-se presentes no fitoplâncton podem acumular em sua carne, principalmente na glândula digestiva (hepatopâncreas), uma ampla variedade de biotoxinas.

Com o processo de seleção das partículas alimentares baseada principalmente em microalgas, esses animais acabam por ingerir grande quantidade de detritos de origem orgânica e inorgânica. E, devido ao seu sistema de circulação aberta, o contato dos tecidos diretamente com essas partículas faz com que ocorra uma rápida absorção e acúmulo de qualquer componente presente na água (FERREIRA, MAGALHÃES, 2004).

Florações de algas nocivas (FANs), também designadas pela sigla em inglês HAB (Harmful Algal Bloom), é o fenômeno biológico que inclui tanto espécies produtoras de toxinas (ficotoxinas), que podem contaminar consumidores finais da cadeia trófica pela bioacumulação, quanto grandes produtoras de biomassa, que podem levar à depleção de oxigênio dissolvido na água, e que, tendo produzido ou não toxinas, pode aumentar a taxa de mortalidade no ambiente marinho (CASTRO, MOSER, 2012).

Várias são as causas citadas na literatura para a ocorrência das FANs. Além das causas naturais (eutrofização natural e variação climática natural), podemos citar o aumento excessivo da concentração de nutrientes na coluna d'água ocasionado pelo aporte fluvial e pela carga de nutrientes de origem terrestre por influência antrópica como os principais responsáveis pelo aumento da produtividade primária (HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012).

As FANs vêm nas últimas décadas despertando preocupações e atitudes de âmbito internacional sendo tema recorrente em todas as grandes conferências (GEOHAB, 2001; HALLEGRAEFF, 2003). Fruto desta preocupação, em janeiro de 2003, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) norte americana organizou uma mesa redonda para estabelecer um consenso sobre a relação de florações de algas nocivas e eutrofização (HEISLER *et al.*, 2008). A reflexão sobre quais os verdadeiros efeitos do aporte de nutrientes no ambiente aquático é a base das abordagens que visam prever ou mitigar um evento de FAN.

O programa de Ecologia Global e Oceanografia de Blooms de Algas Nocivas (Global Ecology and Oceanography of harmful algal blooms - GEOHAB) promove parcerias internacionais que objetivam determinar as relações ecológicas, mecanismos oceanográficos e processos de modelagem que visem melhorar a previsão das FANs (GEOHAB, 2001).

Frolov *et al.*, (2013) relatam sobre programas de monitoramento de florações na costa oeste dos EUA. Neste trabalho eles destacam a importância do uso de uma rede de monitoramento que envolva imagens de satélite (usaram o MODIS-FLH, linha de altura de fluorescência) e a existência de estações de análise *in situ* de clorofila-*a* próximas à costa (nearshore). Mas que ainda assim, esta rede era insuficiente para estudos temporais e espaciais das florações em períodos curtos de tempo. Sugerindo-se a inclusão de estações *in situ* longe da costa (offshore).

O estabelecimento de entendimento mais abrangente do fenômeno das florações, vem nos últimos anos promovendo novas abordagens e estratégias para o enfrentamento do problema. Anderson *et al.* (2012) em trabalho de revisão recente estabelecem que a taxonomia e genética são importantes ferramentas na determinação de diferentes espécies e na análise da expressão dos genes que são envolvidas na produção de ficotoxinas. Além do uso da cromatografia líquida com espectrômetro de massas (LC-MS/MS) como ferramenta de inovação indispensável no reconhecimento de ficotoxinas.

Ainda neste aspecto, Sellner *et al.* (2003) apontam para a necessidade da aplicação de técnicas que detectem as algas nocivas e toxinas no início dos processos de floração. Estas informações ajudariam profissionais da pesca, da aquicultura e de saúde pública a minimizar os efeitos das FANs. Os autores destacam que, embora a técnica microscópica de identificação de táxons garanta resultados com acurácia, ela tem a desvantagem de depender de certo tempo para realização da análise e exige a presença de analisador que tenha *expertise* em taxonomia dos grupos a serem identificados. Neste sentido, uma alternativa são as detecções baseadas em citometria de fluxo que analisam a morfologia e propriedades ópticas do fitoplâncton.

Existem também diferenças na magnitude de bioacumulação pelos mexilhões em diferentes regiões devido à quantidade de chuvas, tipos de ventos, correntes marinhas e temperatura entre regiões tropicais e subtropicais e as regiões temperadas (FERREIRA *et al.*, 2013) o que mostra a importância de conhecimento também desses dados.

Em trabalho organizado pela FAO/OMS/IOC sobre avaliação e gestão de riscos de biotoxinas em moluscos bivalves, Lawrence *et al.* (2011) destacam os parâmetros relacionados ao aparecimento das florações de algas. Eles podem ser divididos em parâmetros físicos (temperatura, vento, condições de luz, hidrografia), químicos (nutrientes, oxigênio, acidez) e biológicos (pastagem e micro-organismos parasitas). Neste mesmo trabalho os fatores relacionados aos moluscos bivalves também são considerados tais como: condições da cultura (profundidade e manutenção das estruturas de apoio que evitam o crescimento de microalgas bentônicas tóxicas); taxas de filtração e metabolismo dos bivalves (padrão de filtração, micro-organismos que afetam o molusco bivalve, mudanças no metabolismo ocasionadas por variações sazonais, reprodução e estresse ambiental). Todos estes aspectos devem ser levados em consideração quando nos deparamos com florações que podem ocorrer em condições variáveis durante o ano.

Mafra Júnior *et al.* (2006) em estudo no complexo estuarino do Paranaguá, no Sul do Brasil, determinam fatores ambientais como: índice pluviométrico, temperatura da água, salinidade, turbidez, nutrientes (nitrito, nitrato, fosfato, silicato e amônia), clorofila-*a*. Estes fatores foram associados as análises taxonômicas de algas nocivas, bioensaios com camundongos para DSP e PSP e análise de HPLC (cromatografia líquida de alta performance) para ASP para extratos obtidos do molusco bivalve *Mytella guyanensis*. Os resultados indicaram a presença de algas nocivas com confirmação para ficotoxinas da DSP (em 2002) relacionadas a *Dinophysis acuminata* e toxinas da PSP e ASP em cepas cultivadas em laboratório.

Monitoramento e legislação no Brasil

A investigação pela ocorrência de algas nocivas e ficotoxinas na carne dos moluscos cultivados foi iniciada em 1997 no Estado de Santa Catarina e deu suporte à atividade de maricultura local. Iniciando-se um programa piloto de monitoramento desenvolvido pelo Laboratório de Estudos sobre Algas Nocivas, da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) em uma importante área de cultivo do Estado, sendo o primeiro em todo o litoral brasileiro. Posteriormente, a criação do Comitê Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos

Bivalves (CNCMB), extinto em 2012, incluiu não só o monitoramento microbiológico, mas também o de ficotoxinas envolvendo os moluscos bivalves (PROENÇA; SCHRAMM, 2013).

Atualmente os testes de monitoramento são exigidos pelo Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves – PNCMB, que foi instituído pela Instrução Normativa Interministerial (INI) nº 7 de 8 de maio de 2012, assinada conjuntamente pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O PNCMB foi elaborado para monitorar toda a produção do setor destinada ao consumo humano, como ostras, berbigões, vieiras e mexilhões (BRASIL, 2012b). A Instrução Normativa nº 3, publicada no mês anterior, em 13 de abril de 2012 pelo Ministério da Pesca e Aquicultura, instituiu a RENAQUA – rede oficial de laboratórios responsáveis pela realização de diagnósticos e análises oficiais e pelo desenvolvimento contínuo de novas metodologias analíticas (BRASIL, 2012a; PROENÇA; SCHRAMM, 2013).

Em seu artigo 3º também traz definições importantes dos principais tipos de intoxicações e a caracterização de micro-organismos que podem contaminar a carne dos bivalves. A inclusão também dos limites máximos aceitáveis de biotoxinas produzidas por algas para a retirada de moluscos bivalves dos locais de cultivo padroniza a produção brasileira com os valores aceitáveis em outros países. As referências (por quilograma de parte comestível) são: 0,8 mg equivalentes de saxitoxina, 0,16 mg equivalentes de ácido ocadaico, 1,0 mg equivalentes de yessotoxina, 0,16 mg equivalentes de azaspirácidos (AZA1) e 20 mg de ácido domoico (BRASIL, 2012b; PROENÇA; SCHRAMM, 2013).

Após a publicação da INI MPA/MAPA nº 7, a instituição da Portaria nº 204 publicada em 28 de junho de 2012/Portaria nº 175, de 15 de maio de 2013, define as metodologias analíticas oficiais que deverão ser adotadas pela Rede Nacional de Laboratórios do MPA - RENAQUA (BRASIL, 2013).

Tendo em vista o disposto no artigo 7º da INI MPA MAPA nº 07/2012 e na Portaria nº 204/2012, considera-se importante a correta operacionalização do monitoramento, controle e fiscalização de micro-organismos contaminantes e biotoxinas marinhas, bem como o monitoramento de espécies de microalgas potencialmente produtoras de toxinas. Sendo para isso, elaborado em 2013 o Manual do MPA para o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves – PNCMB, que inclui o Manual de Coleta e Remessa de Amostras Oficiais do PNCMB e orientações para a definição da retirada de moluscos bivalves nas áreas de extração ou cultivo, que tem como objetivo orientar e padronizar os procedimentos de coleta e remessa de amostras no âmbito do PNCMB (BRASIL, 2012b, c).

Para o monitoramento oficial, devem ser realizadas coletas com periodicidade mínima de 15 em 15 dias em cada área de extração ou cultivo. Sendo observado um incremento significativo das populações de microalgas produtoras de toxinas, associada a condições oceanográficas favoráveis ao seu desenvolvimento, deve-se aumentar a frequência de coleta de moluscos e água para o monitoramento de biotoxinas e microalgas para, no mínimo, semanalmente. Caso haja mais de uma espécie de molusco bivalve em uma mesma área de cultivo ou extração, é determinada uma espécie a ser coletada para o monitoramento. Neste caso, sendo detectada a presença de ficotoxinas nesta espécie, as demais espécies cultivadas deverão ser coletadas e monitoradas.

A portaria estabelece ainda os métodos para determinação da concentração dos diversos tipos de toxinas responsáveis pelas principais síndromes associadas ao consumo de bivalves. Estes métodos estão descritos no quadro abaixo (Quadro 1):

Quadro 1- Métodos para determinação da concentração de toxinas, adaptado da Portaria nº 204/2012 (BRASIL, 2012c).

Síndromes associadas ao consumo de bivalves	Metodologia de referência	Metodologia alternativa
Toxinas paralisantes (PSP)	Método biológico (AOAC 959.08)	Método de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência HPLC-FLD com derivatização pré-coluna (AOAC 2005.06) ou com derivatização pós-coluna (AOAC 2011.02)
Toxinas amnésicas (ASP)	Método de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção em HPLC-UV (referência EURL- MB-Harmonised- ASP-HPLC-UV - Regulamento CE nº 1244/2007)	Método de LC MS/MS (referência EU-RL-MB- Harmonised-ASP-HPLC-MS - Regulamento CE nº 1244/2007)
Toxinas lipofílicas (grupos AO, YTX e AZA)	Método de cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas LC-MS/MS (referência EU-RL- MB-Harmonised-LIPO-LCMS/MS - Regulamento UE nº 15/2 011) com determinação dos seguintes compostos: grupo do ácido ocadáico (AO, DTX1, DTX2, DTX3 incluindo seus ésteres); II - grupo	Métodos biológicos de análise (referência EU-RLMB- Harmonised-MBA-Lipophilic - Regulamento UE nº 15/2011)

	yessotoxinas (YTX, 45-OH-YTX, Homo-YTX, 45-OH-Homo-YTX); III - grupo azaspirácidos (AZA1, AZA2, AZA3)	
--	---	--

Para o monitoramento de espécies de microalgas potencialmente produtoras de toxinas, serão coletadas amostras de água marinha para a realização de análise quantitativa e uma amostra concentrada em rede de fitoplâncton para análise qualitativa. A identificação das espécies de microalgas produtoras de toxinas feita por microscopia ótica e a contagem dos organismos realizada pelo método de câmara de sedimentação de UTERMÖHL. Na contagem, deverão ser estimados o fitoplâncton total e as espécies de microalgas potencialmente produtoras de toxinas associadas à contaminação de moluscos bivalves.

A partir dos resultados, havendo contradição com os valores dispostos no artigo 6º do Anexo I da INI MPA/MAPA nº 07/2012 aplicam-se os critérios utilizados para a definição de retirada de moluscos bivalves e liberação de área suspensa de acordo e com as metodologias analíticas oficiais dispostas na Portaria MPA nº 204/2012, a fim de garantir a sua qualidade para o consumo.

A RENAQUA conta com quatro laboratórios sendo um deles designado para atuar como laboratório oficial central (AQUACEN) e os demais como laboratórios oficiais (LAQUAs) Na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), está abrigado o laboratório central dedicado à saúde animal. Este é o laboratório que desenvolve, valida e implementa na rede de laboratórios os diagnósticos oficiais de doenças de animais aquáticos, além de ser o auditor central. A Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) abriga o laboratório dedicado ao diagnóstico de doenças de crustáceos. A Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina – CIDASC abriga o laboratório de diagnóstico de doenças de animais aquáticos e o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC) abriga o laboratório de análises de biotoxinas marinhas (BRASIL, 2012a).

Dito isso, a implantação do programa de monitoramento contribui com a garantia de segurança da qualidade do produto ao consumidor, além de promover a valorização e a ampliação da produção de moluscos bivalves na região, a exemplo do Estado de Santa Catarina, é também um passo importante para a efetivação da regulamentação do PNCMB no Estado do Rio de Janeiro.

Área envolvida na proposta: Enseada do Forno – Arraial do Cabo/RJ

Arraial do Cabo é uma cidade costeira e situa-se entre as coordenadas 22° 57' 57" S, 42° 1' 40" W. Foi emancipado de Cabo Frio em 1985, e possui pouco mais de 28.000 habitantes (IBGE, 2012).

Como se pode ver no mapa abaixo (Figura 1), o município de Arraial do Cabo possui algumas enseadas e dentre essas, destaca-se a Enseada do Forno, local onde estão localizadas atualmente três fazendas marinhas de cultivo de moluscos bivalves (mexilhões, ostras e vieiras). A produção nestas fazendas beneficia diretamente as famílias que vivem da renda gerada pela venda, principalmente em alta temporada no município.

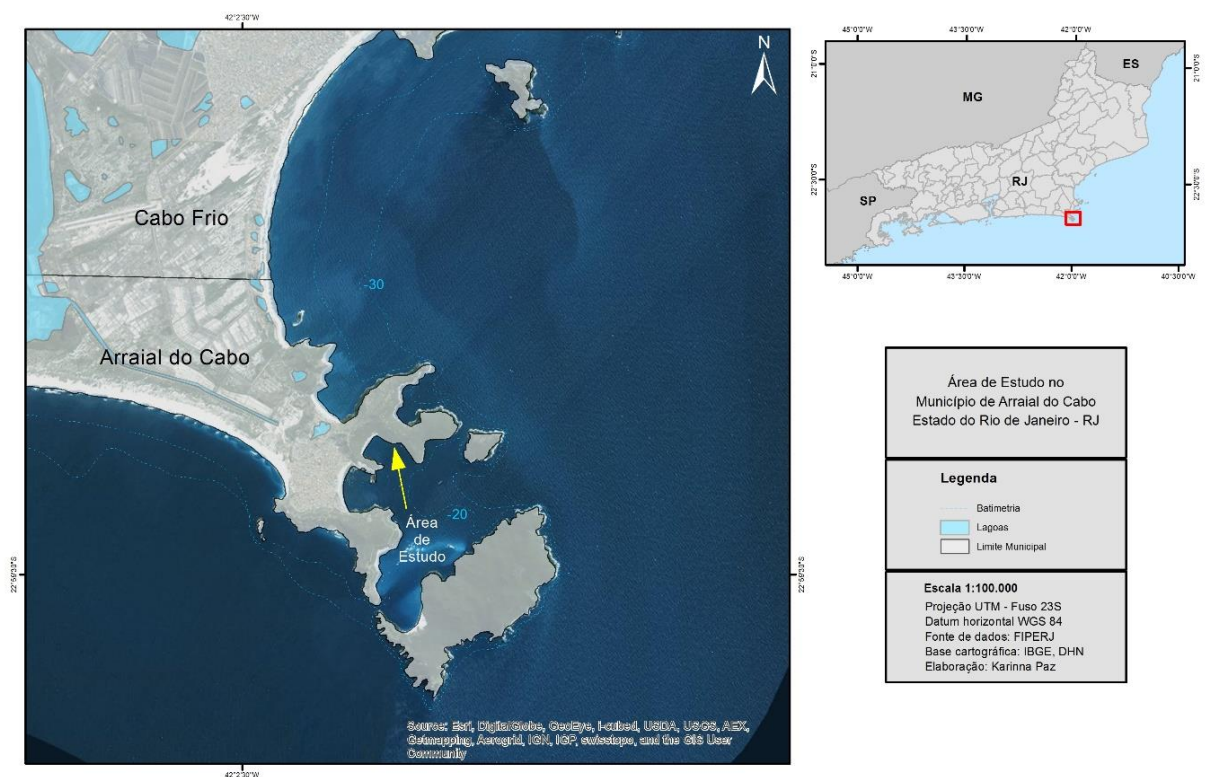


Figura 1 – Área da fazenda de maricultura

Arraial do Cabo apresenta dois fatores relevantes que influenciam diretamente na pesca: uma singular projeção oceânica em relação ao litoral, tornando-a um dos pontos da costa brasileira que mais se projeta em direção ao mar, e a presença do fenômeno da ressurgência (RODRIGUES, 2011). A ressurgência (*upwelling*), consiste no afloramento das águas mais profundas e frias (abaixo de 20° C) até a superfície do oceano, condicionado por efeitos físicos aumentando o teor de nutrientes (CARVALHO; RODRIGUES, 2004), com picos de ocorrência

na primavera e verão. Nesse sentido, essa região apresenta condições favoráveis ao desenvolvimento do cultivo de moluscos (LAVINAS *et al.*, 2008).

Aspectos gerais sobre o cultivo de moluscos em Arraial do Cabo

O município de Arraial do Cabo possui uma importância histórica no desenvolvimento de tecnologias relacionadas a maricultura no Brasil, uma vez que foi um dos pioneiros nas pesquisas de cultivo de moluscos e peixes marinhos (POLI, 2004; MARENZI *et al.*, 2008). Este fato sucedeu com o início das atividades do Projeto Cabo Frio, iniciado pelo então diretor do Instituto de Pesquisas da Marinha (IPqM). Em 1984, foi criado o Instituto Nacional de Estudos do Mar (INEM) aproveitando os trabalhos realizados, os pesquisadores e as instalações do Projeto, atualmente Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM (IEAPM, 2003). O Projeto Cabo Frio teve início em novembro de 1971 e tinha como objetivo a criação de uma instituição destinada a apoiar e executar estudos do mar e de seus recursos oceanográficos, físico-químicos e biológicos, estimulando a produção natural e promovendo a produção controlada de peixes, crustáceos, moluscos e algas, com o máximo aproveitamento das condições ambientais especiais existentes na região.

Atualmente o município possui três fazendas de cultivo de moluscos, sendo que todas são de responsabilidade de associações vinculadas a maricultores, pescadores, catadores de mariscos e moradores tradicionais. Estas fazendas foram criadas a partir de ações de apoio e fomento realizados principalmente pelo SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas) a partir do ano de 2005 (DUARTE, 2007).

Na área de estudo, a vieira *Nodipecten nodosus* apresenta alto valor comercial e boa potencialidade de cultivo (NUNES *et al.*, 2011), sendo a principal espécie cultivada, seguida pelo mexilhão *Perna perna* e a ostra do pacífico *Crassostrea gigas*. Lavinas *et al.*, (2008) demonstraram que um crescimento satisfatório de *C. gigas* pode ser alcançado em poucos meses de cultivo na mesma região, mesmo em baixos eventos de ressurgência (estações Outono / Primavera).

O sistema de cultivo utilizado é o tipo *long-line*, que consiste num cabo mestre de aproximadamente 100 metros de comprimento onde as estruturas de cultivo são amarradas e suspensas por boias flutuadoras ou “bombonas”. Todo manejo é realizado de forma artesanal e em balsas flutuantes de madeira próximo ao cultivo, pois as fazendas não possuem estrutura em terra como ranchos.

As vieiras são cultivadas a partir de sementes produzidas em laboratório (“*hatchery*”) no próprio estado do Rio de Janeiro e geralmente são entregues com tamanho de 8 a 10 mm de

comprimento. As sementes são cultivadas em lanternas japonesas do tipo berçário com geralmente cinco compartimentos (andares). Com o aumento de tamanho das vieiras do cultivo, é necessária a utilização de lanternas intermediárias e definitivas para fornecer condições favoráveis ao crescimento, além de uma série de manejos relacionados a diminuição da densidade das lanternas, troca e limpeza das mesmas, retirada de predadores e de conchas vazias (mortas), dentre outros (AVELAR, 2000; RUPP; PARSONS, 2004).

O cultivo das ostras possui semelhanças com o das vieiras, principalmente no que se refere as estruturas de cultivo. Igualmente são utilizadas as lanternas berçário, intermediária e definitiva. Também são aplicados manejos ao longo do cultivo para fornecer condições adequadas de crescimento.

Já o cultivo do mexilhão é realizado em “cordas ou pencas de mexilhão” de 1,0 a 1,5 metro de comprimento. Inicia-se com sementes e juvenis de 2 a 4 cm de comprimento, coletados geralmente nas próprias estruturas de cultivo e em menor quantidade nos estoques naturais (costões rochosos da região). As cordas de mexilhão são preenchidas com auxílio de um cano de PVC, sendo as sementes ensacadas por duas redes: uma interna de algodão e uma externa de nylon, semelhante ao descrito por Ferreira e Magalhães (2004) e Marenzi e Branco (2005).

Considerações sobre a implantação de um programa de monitoramento de ficotoxinas na RESEXMAR de Arraial do Cabo

Reservas Extrativistas Marinhas são áreas protegidas, pertencentes ao Sistema Nacional de Unidades de Conservação – SNUC, de base comunitária baseadas em modelo de cogestão de manejo e utilização sustentável dos recursos naturais (SANTOS; SCHIAVETTI, 2013). A pesca e a atividade de maricultura nestas reservas devem atender as necessidades das populações extrativistas tradicionais e aos princípios da sustentabilidade. É necessário um plano de manejo que garanta uma gestão participativa envolvendo todos os atores do processo. Embora haja discrepâncias na interpretação jurídica do direito ao uso do ambiente marinho pelas populações extrativistas tradicionais, não se tem como negar que a existência de uma RESEXMAR propicia uma gestão adequada dos recursos naturais (SANTOS; SCHIAVETTI, 2013). Em Arraial do Cabo, a RESEXMAR foi criada por agência ambiental governamental (IBAMA), conforme o Decreto s/nº, de 3 de Janeiro de 1997, sendo hoje administrada pelo ICMBio.

Neste contexto, apesar do reconhecimento de que as ficotoxinas são um problema relevante na questão do cultivo de moluscos bivalves, algumas dificuldades tornam-se importantes obstáculos para a realização de um programa contínuo de monitoramento. Podemos

destacar: a falta de laboratórios credenciados pelo Ministério da Pesca e Aquicultura próximos ao cultivo que possam ser responsáveis pelas análises fitoplanctônicas, toxicológicas e químicas, visto que o único laboratório credenciado pelo MPA localiza-se no Estado de Santa Catarina. Outro ponto engloba a questão da logística de coleta, transporte e armazenamento, questão importante e que dificilmente encontra-se resolvida nos laboratórios que pretendem atender às coletas quinzenais propostas na legislação. E a falta de incentivo para qualificação do produto e serviço visando outros mercados (nacionais e internacionais). Estas questões podem ser amenizadas com ações integradas entre o setor produtivo e os órgãos públicos responsáveis pelo fomento, desenvolvimento e pela fiscalização do controle sanitário da atividade de cultivo de moluscos bivalves em todas as esferas: municipal, estadual e federal (Ministério da Pesca e Aquicultura, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Secretarias de Meio ambiente ou Pesca, Fiperj, ICMBio, entre outros).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a potenciais problemas de saúde pública e a importância social e econômica do cultivo de moluscos bivalves na RESEXMAR de Arraial do Cabo, faz-se necessário a realização de avaliações periódicas dessa produção no sentido de identificar quais espécies de microalgas de ocorrência nas áreas de cultivo devem ser monitoradas de perto em função da produção de toxinas e a incidência nos moluscos bivalves cultivados para evitar-se uma possível contaminação de seus consumidores finais.

O extrativismo e o cultivo nessa região são feitos por comunidades tradicionais como parte de sua estratégia de subsistência e o seu consumo e venda fazem parte do hábito dessas comunidades. O conhecimento de quais as espécies tóxicas de ocorrência nas áreas de cultivo é uma ferramenta a mais para a constituição de uma base de dados direcionada à elaboração de um programa de monitoramento e de planos de ação em saúde pública em caso de contaminação por teores de ficotoxinas acima do permitido na legislação brasileira. O monitoramento também reforça o controle higiênico-sanitário do produto garantindo-se uma melhor gestão da atividade.

A criação de programas de monitoramento de FANs torna-se importante para o manejo dos produtos da atividade de aquicultura, pois evita uma possível contaminação pelo acúmulo de toxinas nos moluscos levando a problemas na saúde pública, economia e turismo locais. E quando as causas de uma intoxicação alimentar oriundas de ficotoxinas são determinadas, seus efeitos podem ser evitados ou minimizados.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Geógrafa Karina Paz pela elaboração do mapa da área de estudo, a Viviane Almeida pela elaboração do Abstract e a Claudia Cristina Machado F. de Oliveira pela revisão linguística do texto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, D. M.; CEMBELLA, A. D.; HALLEGRAEFF, G. M. Progress in Understanding Harmful Algal Blooms: Paradigm Shifts and New Technologies for Research, Monitoring, and Management. *Annual Review of Marine Science*. 4: 143–76. 2012.
- AVELAR, J.L. O Cultivo de Vieiras no Estado do Rio de Janeiro. *Panorama da aquicultura*. 62: 41-47. 2000.
- BARBIERI, E. O perigo das biotoxinas marinhas. São Paulo: Instituto de Pesca, 2009. Disponível em <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/texto_tecnico_barbieri.pdf> Acesso em: 05 abril 2014.
- BRASIL. 2012a. Instrução Normativa nº 3, de 13 de abril de 2012 - Ministério de Estado da Pesca e Aquicultura. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 18/04/2012. n. 75, Seção 1, p. 37.
- BRASIL. 2012b. Instrução normativa interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012 - Ministério da Pesca e Aquicultura e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 09/05/2012. Seção 1, p. 55-59. 2012.
- BRASIL. 2012c. Portaria nº 204, de 28 de junho de 2012. Ministério da Pesca e Aquicultura. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 29/06/2012. Seção 1, p. 56.
- BRASIL. Portaria nº 175, de 15 de maio de 2013. Ministério da Pesca e Aquicultura. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 16/05/2013. n. 93, Seção 1, p. 57. 2013.
- CARVALHO, W.F.; RODRIGUES, E.G. Development of primary and bacterial productivity in upwelling waters of Arraial do Cabo Region, RJ (Brazil). *Brazilian Journal of Oceanography*, 52(1): 35-45. 2004.

CASTRO, N. O.; MOSER, G. A. O. Florações de algas nocivas e seus efeitos ambientais. *Oecologia Australis*. 16 (2): 235-264, Junho. 2012.

DO/UE. REGLAMENTO (UE) No 786/2013 DE LA COMISIÓN de 16 de agosto de 2013 por el que se modifica el anexo III del Reglamento (CE) no 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites autorizados de yesotoxinas en moluscos bivalvos vivos. Diario Oficial de la Unión Europea, 17.8.2013. 2013. Disponível em <<http://www.boe.es/doue/2013/220/L00014-00014.pdf>> Acesso em 17 out. 2014.

DUARTE, R. B. A. Histórias de sucesso: agronegócios: aquicultura e pesca. Brasília: Sebrae, 200p. 2007.

EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Emerging toxins: Brevetoxin group. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) EFSA Journal 8(7):1677. Parma, Italy. 2010.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Marine biotoxins. FAO Food and Nutrition Paper 80. Rome. 280p. 2004.

FAO/IOC/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO/World Health Organization), 2004. In Background document of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs, Oslo, Norway, September 26-30, 2004.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Biotoxinas Marinhas. ESTUDIO FAO: ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN. Roma. 229p. 2005. Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/008/y5486s/y5486s00.htm>> Acesso em 17 out. 2014.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014. Rome. 223p. 2014.

FERREIRA, J. F.; MAGALHÃES, A. R. M. Cultivo de mexilhões. In: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E. BELTRAME, E. *Aquicultura: Experiências Brasileiras*. Multitarefa Editora, Florianópolis, p. 221-250. 2004.

FERREIRA, M. S.; MÁRSICO, E. T.; CONTE JUNIOR, C. A.; MARQUES JÚNIOR, A. N.; MANO, S. B.; SÃO CLEMENTE, S. C. Contaminação por metais traço em mexilhões Perna perna da costa brasileira. *Ciência Rural*, 43(6): 1012-1020. 2013.

FONSECA-KRUEL, V. S.; PEIXOTO, A. L. Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. *Acta Botânica Brasilica* 18(1): 177-190. 2004.

FRANCHINI, A.; MALAGOLI, D.; OTTAVIANI, E. Targets and Effects of Yessotoxin, Okadaic Acid and Palytoxin: A Differential Review. *Marine Drugs*. 2010. Disponível em <www.mdpi.com/journal/marinedrugs> Acesso em: 07 set. 2014.

FROLOV, S.; KUDELA, R. M.; BELLINGHAM, J. G. Monitoring of harmful algal blooms in the era of diminishing resources: A case study of the U.S. West Coast. *Harmful Algae* 21–22: 1-12. 2013.

GEOHAB (Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms). Science Plan. P. Glibert and G. Pitcher (eds). SCOR and IOC, Baltimore and Paris. 87p. 2001.

HALLEGRAEFF, G.M. Harmful algal blooms: a global overview. In: HALLEGRAEFF, G.M.; ANDERSON, D.M.; CEMBELLA A.D. (eds.). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. IOC Manuals and Guides, 33, UNESCO, Paris, France. 551p. 2003.

HALLEGRAEFF, G.M.; ANDERSON, D.M.; CEMBELLA A.D. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. IOC Manuals and Guides, 33, UNESCO, Paris, France. 793p. 1995.

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

IBAMA. Estatística da Pesca 2000 – Brasil Grandes Regiões e Unidades da Federação. Brasília, 16p. 2000.

IBGE. Estimativas populacionais para os municípios brasileiros. 2012. Disponível em <www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2012/> Acesso em: 02 abril 2014.

IEAPM. Nossa História. A Ressurgência, ano 1(1):3-5. 2003. Disponível em <<https://www1.mar.mil.br/ieapm/?q=historico>> Acesso em: 16 junho 2014.

LAVINAS, A. F.; VILLAÇA, R. C.; SAAD, A. M. Evaluation of the growth and mortality of the oysters (*Crassostrea gigas*, Thunberg, 1795) in the sea farm in Arraial do Cabo, RJ. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 34(4): 497-504. 2008.

LAWRENCE, J.; LOREAL, H.; TOYOFUKU, H.; HESS, P.; KARUNASAGAR, I.; ABABOUC, L. Assessment and management of biotoxin risks in bivalve molluscs. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 551. Rome, FAO. 337p. 2011.

LOURENÇO, A. J.; FERREIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; ROSA, C.A.R.; DIREITO, G.M. OLIVEIRA, G.M. Evidência de depuração natural da toxina diarreica ácido ocadaico em mexilhões *Perna perna* (LINNÉ, 1758) cultivados em fazenda de maricultura na baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*. 14(2): 91-94, maio/ago. 2007.

MAFRA JUNIOR, L. L.; FERNANDES, L. F.; PROENÇA, L. A. O. Harmful algae and toxins in Paranaguá Bay, Brazil: bases for monitoring, *Brazilian Journal of Oceanography*, 54(1/2): 107-121. 2006.

MARENZI, A. W. C.; BRANCO, J. O. O Mexilhão *Perna perna* (Linnaeus) (Bivalvia Mytilidae) em cultivo na Armação do Itapocoroy, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22(2): 394-399. 2005.

MARENZI, A. W. C.; FERREIRA, J. F.; MARQUES, H. L. A.; OLIVEIRA NETO, F.; MANZONI, G. C. Cultivo. In: RESGALLA JR.; C. WEBER, L. I.; CONCEIÇÃO, M. B. (eds). *O Mexilhão Perna perna (L.). Biologia, ecologia e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência, p. 169-181. 2008.

MARINÉ, G. F.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. M.; FERREIRA, V. M. Detecção de ácido ocadaico em cultivo de mexilhões *Perna perna*, Angra dos Reis, RJ. *Ciência Rural*, 40(1): 193-196. 2010.

MARQUES, H. L. A. Criação Comercial de Mexilhão. São Paulo: Ed. Nobel. 111p. 1998.

MIOTTO, M. C.; TAMANAHA, M. S. Ocorrência de dinoflagelados tecados potencialmente tóxicos e nocivos em cultivos de moluscos situados no município de Penha, SC. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.*, 2012, 16(1):53-67. 2012.

MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura). RENAQUA. O que é? 2012. Disponível em <<http://www.mpa.gov.br/index.php/monitoramento-e-controlempa/saude-pesqueira/laboratorios-renaqua/o-que-e>> Acesso em: 06 junho 2014.

MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura). Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. 60p. 2013.

NUNES, J.; SILVA, M. J. R.; PASTOR, L.; KITA, J.; GABRIEL, J.; MACHADO, M. R. F. Avaliação das taxas de crescimento e sobrevivência da vieira (*Nodipecten nodosus*) cultivada na Praia do Forno em Arraial do Cabo/RJ-Brasil: resultados preliminares. III Encontro Nacional dos Núcleos de Pesquisa Aplicada em Pesca e Aquicultura. 2011. Disponível em <<http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/ENNUPAS/article/view/1616>> Acesso em: 20 junho 2014.

PAZ, B.; DARANAS, A.H.; NORTE, M.; RIOBÓ, P.; FRANCO, J.M.; FERNÁNDEZ, J.J. Yessotoxins, a group of marine polyether toxins: an overview. *Mar Drugs*. May 7; 6(2): 73-102. doi: 10.3390/md20080005. 2008. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18728761>> Acesso em: 05 out. 2014.

PINILLOS, M.A.; GÓMEZ, J.; ELIZALDE, J.; DUEÑAS, A. Intoxicación por alimentos, plantas y setas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* v.26 supl.1 Pamplona. 2003. Disponível em <http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000200015> Acesso em: 05 out. 2014.

POLI, C. R. Cultivo de Ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*, 1852). In: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. *Aqüicultura: Experiências Brasileiras*. Multitarefa Editora, Florianópolis, p. 251-266. 2004.

PROENÇA, L. A. O.; SCHMITT, F.; GUIMARÃES, S. P.; RÖRIG, L. R. Análise de toxinas diarreicas em duas espécies de *Prorocentrum* (dinophyceae) isoladas em área de cultivo de moluscos. *Notas Técnicas. Facimar*. 3: 41-45. 1999.

PROENÇA, L. A. O.; SCHRAMM, M. A. Limites seguros para Ficotoxinas em moluscos bivalves conhecendo a doença para elaborar estratégias de controle. *Panorama da Aquicultura*, 2013. Disponível <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2134>> Acesso em: 20 junho 2014.

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

RODRIGUES, M. T. Ressurgência: Fenômeno da Vida. *Revista do Meio Ambiente*. Edição 41. 2011. Disponível em <<http://www.portaldomeioambiente.org.br>> Acesso em: 06 abril 2014.

ROSA, R. C. Impacto do Cultivo de Mexilhão nas Comunidades Pesqueiras de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 183f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 1997.

RUPP, G. S.; PARSONS, G. J. Scallop aquaculture and fisheries in Brazil. In SHUMWAY, S. E.; PARSONS, G. J. eds. *Scallops: Biology Ecology and Aquaculture*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. *Elsevier*. (35): 1225-1250. 2006.

SANTOS, C. Z.; SCHIAVETTI, A. Reservas extrativistas marinhas do brasil: contradições de ordem legal, sustentabilidade e aspecto ecológico. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 39(4): 479-494. 2013.

SCHRAMM, M. A.; PROENÇA, L. A. O. Cultivo de moluscos: Monitoramento de algas nocivas e ficotoxinas. *Panorama da Aquicultura*, março/abril. 2008.

SCHRAMM, M.A.; TAMANAHA, M.S.; BEIRÃO, L.H.; PROENÇA, L. A. O. Toxinas paralisantes em mexilhão *Perna perna* em áreas de cultivo da costa sul do Brasil: estudo de caso. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara 17(4): 443-450. 2006.

SELLNER, K. G.; DOUCETTE, G. J.; KIRKPATRICK, G. J. Harmful algal blooms: causes, impacts and detection. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30: 383-406. 2003.

SOUTO, C. A. P. Economia solidária e gestão sustentável da pesca e aquicultura: uma análise da abordagem econômico-solidária em políticas públicas de pesca e aquicultura no Brasil. *Agroecossistemas*, 4(1): 87-102. 2012.

TWINER, M. J.; REHMANN, N.; HESS P.; DOUCETTE G. J. Azaspiracid Shellfish Poisoning: A Review on the Chemistry, Ecology, and Toxicology with an Emphasis on Human Health Impacts. *Marine Drugs*. 6: 39-72. 2008.

VALE, P. Biotoxinas marinhas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, RPCV* 99 (549): 03-18. 2004.

VIEGAS, S. J. Alterações do estado de saúde associadas à alimentação: contaminação microbiológica dos alimentos. – Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Departamento de Alimentação e Nutrição. Unidade de Observação e Vigilância, 32p. 2009.

WIESE, M.; D'AGOSTINO, P. M.; MIHALI, T. K.; MOFFITT, M. C.; NEILAN, B. A. Neurotoxic Alkaloids: Saxitoxin and Its Analogs. *Marine Drugs* 8: 2185-2211. 2010. Disponível em <www.mdpi.com/journal/marinedrugs> Acesso em: 07 set. 2014.

YASUMOTO, T.; OSHIMA, Y.; YAMAGUCHI, M. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44(11): 1249-1255. 1978.

ARTIGO CIENTÍFICO 2

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE PARA PSP E DSP EM MEXILHÕES *Perna perna* (LINNAEU, 1758) E MONITORAMENTO FITOPLANCTÔNICO EM FAZENDA DE MARICULTURA DA RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA DE ARRAIAL DO CABO, RJ.

Daniela Almeida de SOUZA^{1*}, Maria Helena Campos BAETA NEVES², Mathias Alberto SCHRAMM³, Luis Antônio de Oliveira PROENÇA³, Victor Barbosa SARAIVA¹, Manildo Marcião de OLIVEIRA^{1*}.

¹*Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental (LEMAM). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Fluminense (IFF). Estrada CaboFrio-Búzios s/nº - Baía Formosa - Cabo Frio/Rio de Janeiro- CEP 28909-971. *Autores correspondentes: danielabio@hotmail.com/mmoliveira@iff.edu.br*

²*Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM). Rua Kioto, nº 253 - Praia dos Anjos - Arraial do Cabo/Rio de Janeiro- CEP 28930-000.*

³*Laboratório de Pesquisa e Monitoramento de Algas Nocivas e Ficotoxinas – Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC). Rua Tijucas, nº 55 - Centro - Itajaí/Santa Catarina - CEP 88301-306.*

RESUMO

Neste trabalho apresentamos os resultados do monitoramento da ocorrência de toxinas causadoras da síndrome paralisante de moluscos (PSP) e da síndrome diarreica de moluscos (DSP) em extratos obtidos de mexilhões *Perna perna* cultivados em fazenda de maricultura de Arraial do Cabo, RJ, entre janeiro de 2013 e maio de 2014. Amostras para a identificação taxonômica do fitoplâncton para o monitoramento foram coletadas utilizando-se rede de plâncton (20 µm). Para o estudo da estrutura da comunidade fitoplanctônica foi utilizado o índice de riqueza de Margalef, índice de diversidade específica de Shannon-Wiener e equitabilidade. Gêneros e espécies com potencial tóxico foram registrados. Sua ocorrência em áreas de cultivo ou de extração de moluscos filtradores, pode comprometer a produção e causar danos econômicos a produtores ou extratores além da contaminação de consumidores finais desses produtos. O resultado positivo para DSP no mês de janeiro de 2014 pode estar

relacionado à presença de espécies de dinoflagelados potencialmente tóxicos do gênero *Dinophysis* na amostra coletada neste mês. Espécies não tóxicas foram abundantes na comunidade fitoplanctônica durante o período observado.

Palavras-chaves: Monitoramento. Ficotoxinas. (PSP) Síndrome paralisante de molusco. (DSP) Síndrome diarreica de molusco. Arraial do Cabo.

ABSTRACT

CULTIVATION OF BIVALVE MOLLUSCS: HARMFUL ALGAE AND BASIS FOR MONITORING PROGRAM OF PHYCOTOXINS IN THE MARINE FARM OF ARRAIAL DO CABO, RJ.

In this study we present the results of monitoring the occurrence of toxins causing Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) and Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) in extracts of mussel *Perna perna* cultivated in the mariculture farm in Arraial do Cabo, RJ, between January 2013 and May 2014. Sample for taxonomic identification of phytoplankton for the monitoring were collected using a plankton net (20 μ m). To study the structure of the phytoplankton community the Margalef Richness Index, Shannon-Wiener diversity index and the equitability were used. Genera and species with potential toxicity were recorded. Its occurrence in areas of cultivation or extraction of filter feeding shellfish, may compromise the production and cause economic harm to producers or harvesters of contamination beyond the final consumers of these products. The positive result for DSP in January 2014 may be related to the presence of potentially toxic species of dinoflagellates of the genera *Dinophysis* in the sample collected in this month. Nontoxic species were abundant in the phytoplankton community during the observed period.

Keywords: Monitoring. Phycotoxins. (PSP) Paralytic Shellfish Poisoning. (DSP) Diarrhetic Shellfish Poisoning. Arraial do Cabo.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas os ambientes aquáticos vêm sofrendo aporte de diversos contaminantes (metais, petróleo, pesticidas). Além da contaminação dos ecossistemas aquáticos por ação antropogênica, há a contaminação de alguns organismos desses ecossistemas por toxinas presentes na própria cadeia alimentar como é o caso da contaminação de pescado e moluscos bivalves por toxinas produzidas por microalgas (ficotoxinas). A maior parte das toxinas desta categoria em ambientes costeiros marinhos é produzida, principalmente, por dinoflagelados e diatomáceas (HALLEGRAEFF, 2003).

As florações de algas são eventos naturais, porém podem ter sua ocorrência potencializada pela ação do homem (HALLEGRAEFF *et al.*, 2003). As florações de algas nocivas (FANs) incluem tanto espécies produtoras de toxinas, quanto os grandes produtores de biomassa, que podem levar à depleção de oxigênio dissolvido na coluna de água aumentando as taxas de mortalidade no ambiente marinho, tendo produzido ou não toxinas (CASTRO; MOSER, 2012).

Espécies de microalgas produtoras de ficotoxinas já foram reportadas em áreas de cultivo da baía de Sepetiba, no Rio de Janeiro (LOURENÇO, 2007) e em áreas de cultivo no Estado de Santa Catarina na Região Sul, maior produtor de moluscos bivalves do país onde o monitoramento é realizado de forma regular com o levantamento taxonômico do fitoplâncton e testes de toxicidade utilizando-se extratos de mexilhões da espécie *Perna perna* (SCHRAMM *et al.*, 2006; ALVES *et al.*, 2010).

Esta espécie é amplamente utilizada como organismo sentinela em programas de monitoramento de poluição marinha e teste de ecotoxicidade sendo utilizado nos países do hemisfério norte para este fim desde a década de 60 (KRISHNAKUMAR *et al.*, 2006; RESGALLA JR.; MORAES, 2008; FERREIRA *et al.*, 2013). Moluscos bivalves são organismos filtradores que se alimentam, entre outras coisas, de organismos planctônicos e de matéria orgânica particulada (MARINÉ *et al.*, 2009; ALVES *et al.*, 2010). De acordo com suas propriedades químicas, as ficotoxinas podem acumular em seus tecidos e em diferentes órgãos e ao serem consumidos, transferidos para níveis tróficos superiores causando intoxicações e danos a diversos organismos, incluindo o homem (HALLEGRAEFF 2003; SCHRAMM *et al.*, 2006; PROENÇA *et al.*, 2011; BAINY, 2013).

Eventualmente toxinas como a saxitoxina e seus congêneres – toxinas da síndrome paralisante ou envenenamento paralisante por moluscos, PSP (Paralytic Shellfish Poisoning), ocorrem em abundância suficiente para contaminar moluscos de cultivo (PROENÇA *et al.*

2001). Essas toxinas contaminam a carne de mexilhões *Perna perna* e são depurados quando ocorre a redução da floração de algas nocivas (PROENÇA *et al.* 1999; LOURENÇO, 2007).

Para a PSP o risco de intoxicação alimentar é moderado, mas pode apresentar efeito grave pois as toxinas paralisantes são neurotoxinas hidrossolúveis que agem sobre células nervosas e musculares e atua como paralisante dos impulsos nervosos (STRANGHETTI, 2007). Pode ocorrer ainda paralisia muscular, dificuldade respiratória acentuada, sensação de asfixia e morte por parada respiratória dos consumidores de moluscos contaminados (HALLEGRAEFF, 2003). A PSP atua por inibição do influxo de sódio nos canais de sódio (Na^+), impedindo a propagação do impulso nervoso (VALE, 2004; WIESE *et al.*, 2010).

A PSP está normalmente relacionada à presença de algumas cianobactérias e espécies dos dinoflagelados do gênero *Alexandrium* como também *Gymnodinium catenatum* e *Pyrodinium bahamense var. compressum* (HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012). Até o momento, o único organismo identificado como produtor de ficotoxinas da PSP, no Brasil, foi *G. catenatum*, mas sem contaminação em seres humanos (SCHRAMM *et al.*, 2006).

Outras toxinas relacionadas às síndromes causadas pela ingestão de moluscos contaminados incluem os poliéteres ácido ocadaico (AO) e seus derivados, as dinofisistoxinas – DTXs (PROENÇA *et al.*, 1999; HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012), responsáveis pela síndrome diarreica ou envenenamento diarreico por moluscos, DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning) que também pode levar a efeitos desagradáveis no organismo. A DSP foi descoberta primeiramente no Japão em 1976 (YASUMOTO *et al.*, 1978).

O AO é um inibidor potente de uma classe de enzimas – as fosfatases proteicas do tipo PP2A e PP1 e leva à acumulação na célula de proteínas hiperfosforiladas, alterando numerosos processos metabólicos. A acumulação, por exemplo, de actina hiperfosforilada, leva à desorganização do citoesqueleto da célula causando a perda da forma de células animais em cultura, o que é também uma maneira de diagnosticar a presença desta toxina (VALE, 2004; FRANCHINI *et al.*, 2010).

O veneno da DSP produz na intoxicação aguda distúrbios gastrointestinais severos. Ao ácido ocadaico tem sido atribuído o desenvolvimento de tumores no sistema digestivo após exposição prolongada (MARINÉ *et al.*, 2009).

As toxinas para DSP estão associadas à presença de espécies do gênero *Dinophysis* e do gênero *Prorocentrum*, além das espécies *Gonyaulax polyhedra*, *Phalacroma rotundatum*, *Protoceratium reticulatum*, *Protoperidinium oceanicum* e *Protoperidinium pellucidum*. (HALLEGRAEFF, 2003; CASTRO; MOSER, 2012).

O estudo para a detecção da toxicidade para PSP e DSP em extratos de mexilhões *Perna perna* foi realizado em uma fazenda de maricultura no município de Arraial do Cabo, cidade costeira do estado do Rio de Janeiro. Este município possui uma Reserva Extrativista Marinha – RESEXMAR, unidade de conservação de uso sustentável que inclui uma faixa marinha de três milhas da costa em direção ao mar e 56.769ha de lâmina d'água (FONSECA-KRUEL; PEIXOTO, 2004) e um número de habitantes em torno de 28.000 mil pessoas (IBGE, 2012).

Arraial do Cabo apresenta uma singular projeção oceânica em relação ao litoral, tornando-a um dos pontos da costa brasileira que mais se projeta em direção ao mar, e a presença do fenômeno da Ressurgência (upwelling), que consiste no afloramento no verão das águas mais profundas e frias (abaixo de 20° C) até a superfície do oceano condicionado por efeitos físicos (SILVA *et al.*, 2006) aumentando o teor de nutrientes (ANDRADE *et al.*, 2003).

A maricultura é desenvolvida em fazendas marinhas que pertencem a associações de pescadores, coletores e criadores locais, beneficiando diretamente cerca de 30 famílias que vivem do consumo e da renda gerada pela venda do produto cultivado ao comércio local. Neste trabalho são apresentados os resultados de pesquisa realizada nos anos de 2013 e 2014 com a realização de bioensaios com camundongos para a detecção de ficotoxinas causadoras da PSP e DSP e o monitoramento fitoplanctônico com ênfase na presença de microalgas potencialmente tóxicas na área de cultivo desses moluscos bivalves.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo

A área de estudo abrange uma das três fazendas de maricultura situadas na Enseada do Forno (Figura 1) no município de Arraial do Cabo (latitude 22° 57' 57" S, longitude 42° 00' 52" O), no litoral do Estado do Rio de Janeiro. O local onde a fazenda de maricultura está instalada possui profundidade média de 6 a 7 metros (DIAS, A. C. P., com. pers.) e a enseada de formação rochosa, se abre em uma praia de aproximadamente 500m de extensão. A dominância de circulação de marés está sob influência de ventos predominantes do quadrante nordeste (NE) durante o verão e ventos do quadrante sul durante o inverno (SILVA *et al.*, 2006).



Figura 1 – Área da fazenda marinha

Temperatura e maré

A temperatura foi verificada *in situ* em águas superficiais utilizando-se termômetro. O horário de coleta de dados de temperatura ocorreu sempre entre às 8:30 e 9:00h.

As condições de maré para a área de estudo foram obtidas nas Tábuas de Marés dos anos de 2013 e 2014, disponível no site do DHN – Diretoria de Hidrografia e Navegação. A amplitude de maré do litoral do Rio de Janeiro varia com altura entre 1 e 2 m.

Amostragem e análise de fitoplâncton

Foram realizadas 12 coletas de amostras de fitoplâncton na fazenda de maricultura entre janeiro de 2013 e maio de 2014, inicialmente em meses alternados (janeiro e abril/2013), e a partir de julho de 2013 com frequência mensal até o mês de março de 2014, sendo a última coleta realizada em maio de 2014. As amostras de água (200mL) foram coletadas realizando-se arrasto vertical com uso de rede de plâncton (abertura de malha de 20 μ m) e destinadas à contagem de microalgas para análise quantitativa. As amostras foram acondicionadas em frasco de polietileno e fixadas em formaldeído a uma concentração final de 4%. As análises quantitativas do fitoplâncton foram realizadas a partir de alíquotas de 50 mL, sedimentadas de acordo com o método de UTERMÖHL (1958) e analisadas no microscópio óptico binocular invertido *Olympus* com um aumento de 400X para a contagem das espécies e para melhor visualização das estruturas básicas de identificação em nível específico. As células foram contadas ao longo do campo óptico distribuídas em transectos horizontais paralelos, cobrindo metade da cubeta de sedimentação, sendo seus resultados expressos em células por litro. A identificação taxonômica foi realizada segundo TOMAS (1997).

Amostragem de mexilhões

As análises das toxinas foram realizadas com a espécie de mexilhão *Perna perna* e as amostras foram coletadas diretamente das cordas de cultivo (uma rede por coleta), aproximadamente 150 indivíduos. Para o transporte, os mexilhões foram acondicionados em isopores com gelo e encaminhados ao laboratório para triagem e levantamento dos parâmetros biométricos.

Ensaio biológico de toxinas PSP

O extrato hidrossolúvel para as toxinas da PSP foi extraído de acordo com a metodologia padrão para bioensaio com camundongos sendo removido o corpo inteiro de aproximadamente 20 mexilhões. As toxinas foram extraídas adicionando-se 100 mL de ácido clorídrico (HCl) 0,1N da Vetec para 100 g de tecidos homogeneizados. A suspensão foi fervida por 5 minutos e resfriada em seguida. O volume foi aferido para 200 mL com HCl 0,1N e o pH corrigido entre 2 e 4. O extrato foi obtido após centrifugação a 3000 RPM por 3 minutos (AOAC, 2000).

O bioensaio com camundongos para PSP consiste na injeção intraperitoneal de 1mL do extrato em cada um de um total de dois camundongos tipo suíço do teste, pesando entre 18 e 21 gramas. Caso haja expressões dos sintomas em até 15 minutos, injeta-se em um terceiro. Os

animais são então observados quanto aos sintomas clássicos de PSP, o tempo de morte é anotado e a toxicidade determinada pela Tabela de Sommer. Para a quantificação da toxicidade o tempo de morte deve estar entre 5 e 7 minutos.

Na União Europeia e no Brasil, o limite máximo aceitável de toxina para PSP produzida por microalgas por quilograma de parte comestível é de 0,8 mg eq. STX Kg⁻¹ (BRASIL, 2012; PROENÇA; SCHRAMM, 2013).

Ensaio biológico de toxinas DSP

O extrato lipossolúvel para toxinas da DSP também seguiu metodologia padrão para bioensaio com camundongos (YASUMOTO *et al.*, 1984; EU, 2009). As ficotoxinas lipofílicas foram extraídas da matriz orgânica do hepatopâncreas dos moluscos homogeneizando-se 20 g de hepatopâncreas com 100 mL de acetona (CH₃(CO)CH₃) adquirida da *Pershy Chemical's*. A solução é filtrada e o solvente orgânico é evaporado sendo o resíduo resultante ressuspensionado em solução aquosa de Tween 60 1% da Croda International PLC.

Para o bioensaio de toxinas lipofílicas, 1mL do extrato é injetado via intraperitoneal em três camundongos tipo suíço pesando entre 17 e 22 gramas. A morte de pelo menos 2 dos 3 camundongos injetados, dentro de 24 horas de observação, constitui um resultado positivo.

Regulamentos europeus e a legislação brasileira adotam o limite máximo de toxinas para DSP produzidas por microalgas por quilograma de parte comestível – AO conjuntamente com DTXs e PTXs de 0,16 mg AO eq/Kg⁻¹ (YASUMOTO *et al.*, 1984; FAO, 2005; EU, 2009; BRASIL, 2012; PROENÇA; SCHRAMM, 2013).

Análises estatísticas

Para o tratamento estatístico dos dados, os resultados obtidos quanto às variações biológicas e os dados acerca de temperatura foram processados em planilha EXCEL[®]: (a) temperatura, (b) maré, (c) total de gêneros registrados distribuídos em suas respectivas classes, (d) contribuição total (%) dos grupos taxonômicos, (e) densidade celular mensal (cél.L⁻¹) do fitoplâncton total, (f) contribuição mensal (%) dos grupos taxonômicos mais representativos, (g) densidade celular do fitoplâncton potencialmente tóxico (cél.L⁻¹) em meses de ocorrência e (h) toxicidade em extratos de mexilhão *P. perna* no período de coleta. Enquanto que para o estudo da estrutura das comunidades fitoplanctônica encontradas, o Índice de Riqueza de Margalef, Índice de Diversidade específica de Shannon-Wiener (H'), Equitabilidade (J') e a determinação do Índice de Similaridade de Bray Curtis foram processados no programa PRIMER 6.0[®].

3. RESULTADOS

Temperatura e maré

A temperatura da água apresentou média de 22,8° C, tendo um valor máximo de 25°C nos meses de abril/2013 e fevereiro/2014 um valor mínimo de 20°C em março/2014 (Figura 2).

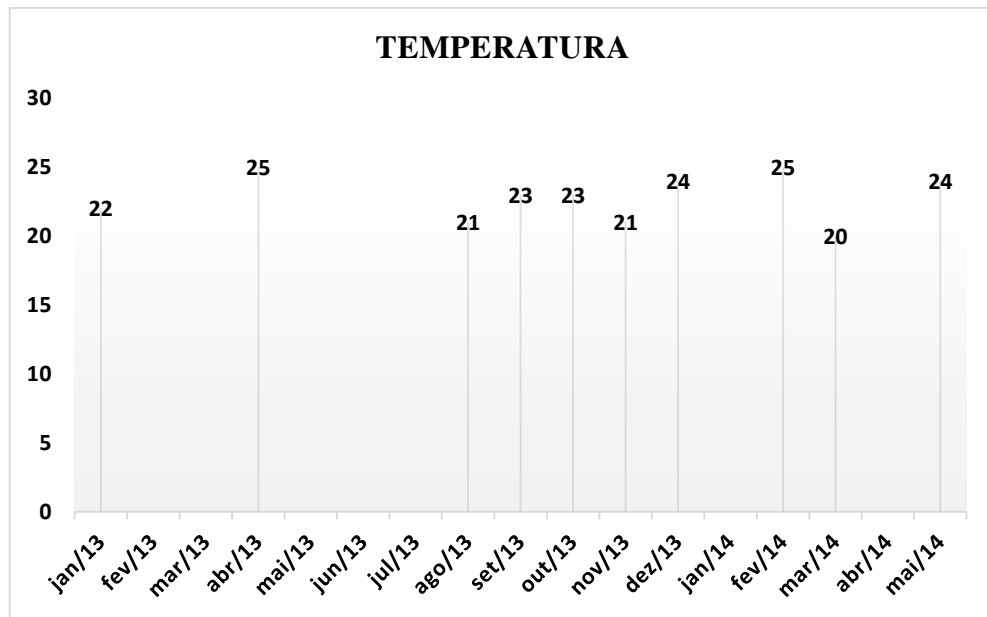


Figura 2 – Temperatura (°C)

As amplitudes de marés correspondente aos dias de coleta são descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Amplitudes de marés

Maré/2013															
Jan./13		Abr./13		Jul./13		Ago./13		Set./13		Out./13		Nov./13		Dez./13	
04:28	1.1	05:15	0.9	03:53	1.2	06:49	0.8	08:41	0.0	04:36	1.0	03:51	1.1	08:08	0.4
10:49	0.4	12:34	0.3	10:54	0.0	13:49	0.6			11:02	0.5	10:08	0.4	13:41	1.1

Maré/2014							
Jan./14		Fev./14		Mar./14		Mai./14	
08:47	0.3	06:13	0.9	05:04	1.0	05:08	0.5
		13:02	0.4	11:53	0.2	10:49	0.9

Os resultados obtidos da análise qualitativa e quantitativa do fitoplâncton demonstraram:

Caracterização da comunidade fitoplanctônica

Através das análises de microscopia foram identificados 43 gêneros distribuídos em 6 classes (Tabela 2), dos quais 31 são diatomáceas (15 *Bacillariophyceae*, 12 *Coscinodiscophyceae* e 04 *Fragilariophyceae*), 10 são *Dinophyceae*, 01 *Dictyochophyceae* e 01 *Cyanobactéria*. Houve presença também de *Phytoflagellate*, restringindo-se a um único registro no mês de janeiro/2014* como se verá mais adiante na Tabela 3.

Tabela 2 – Total de gêneros registrados distribuídos em suas respectivas classes.

Classes	Número de Gêneros
<i>Bacillariophyceae</i>	15
<i>Coscinodiscophyceae</i>	12
<i>Fragilariophyceae</i>	04
<i>Dinophyceae</i>	10
<i>Dictyochophyceae</i>	01
<i>Cyanobactéria</i>	01
<i>Phytoflagellate</i>	01

As diatomáceas constituíram a classe taxonômica mais abundante, correspondendo a uma média de $1,02 \times 10^7$ cel. L⁻¹ com contribuição de 98% do fitoplâncton total, seguida pelos dinoflagelados (média de $2,25 \times 10^5$ cel. L⁻¹) com contribuição de 2%, pelas Crisofíceas (média de $4,36 \times 10^3$ cel. L⁻¹) e pelas Cianobactérias (média de $3,20 \times 10^3$ cel. L⁻¹), ambas com contribuição de 0% (Figura 3). Os Fitoflagelados não estão representados neste quantitativo por terem sido registrados apenas em um dos meses de coleta como já citado, não configurando um dado significativo para este levantamento.

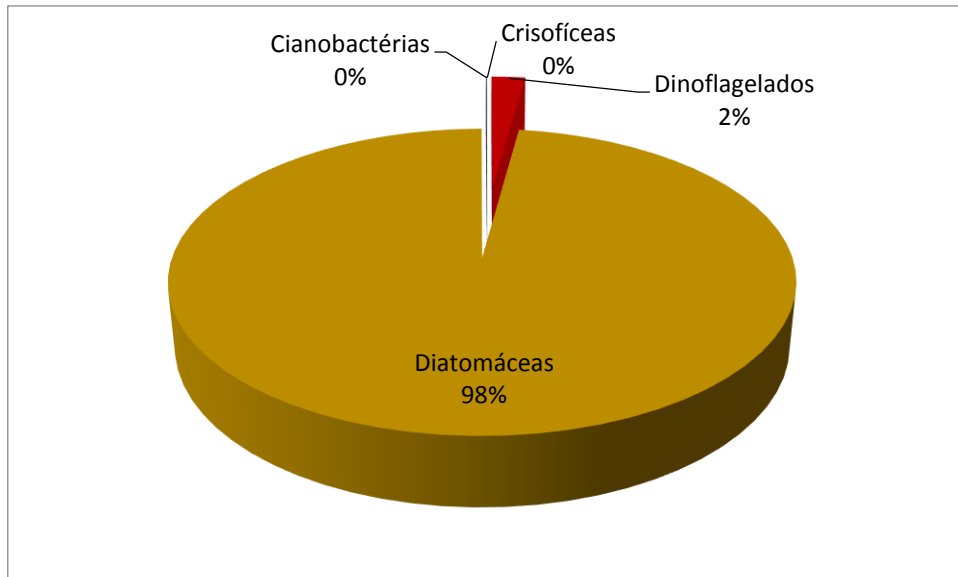


Figura 3: Contribuição total (%) dos grupos taxonômicos

A densidade celular mensal (cél.L⁻¹) do fitoplâncton total relativa ao período de coleta (janeiro/2013 a maio/2014) variou entre 3,48 X 10³ cel. L⁻¹ observada no mês de julho/2013 a 1,01 X 10⁷ cel. L⁻¹ nos meses de janeiro e março/2014, este último com grande contribuição de *Navicula spp.* A densidade celular mensal do fitoplâncton total é apresentada a seguir na Tabela 3.

Tabela 3 – Densidade celular mensal (cél.L⁻¹) do fitoplâncton total

Data	Densidade total (cél/L)
14 Janeiro 2013	43.120
01 Abril 2013	23.360
25 Julho 2013	3.480
28 Agosto 2013	16.640
19 Setembro 2013	20.080
23 Outubro 2013	70.400
20 Novembro 2013	21.880
16 Dezembro 2013	6.480
30 Janeiro 2014	10.050.840*
21 Fevereiro 2014	5.600
21 Março 2014	10.088.920
09 Maio 2014	110.520

A Figura 4 mostra a contribuição mensal (%) dos grupos taxonômicos mais representativos (Diatomáceas e Dinoflagelados) ao longo dos meses de coleta. A menor representatividade das Diatomáceas foi encontrada no mês de fevereiro/2014 ($1,40 \times 10^3$ cel. L^{-1}) e a maior no mês de março/2014 ($1,01 \times 10^7$ cel. L^{-1}), sendo neste mês *Navicula spp* o gênero mais representativo. A menor representatividade dos Dinoflagelados foi registrada no mês de setembro/2013 ($8,0 \times 10^1$ cel. L^{-1}) e a maior no mês de maio/2014 ($9,97 \times 10^4$ cel. L^{-1}), sendo a espécie mais representativa neste mês *Prorocentrum compressum*.

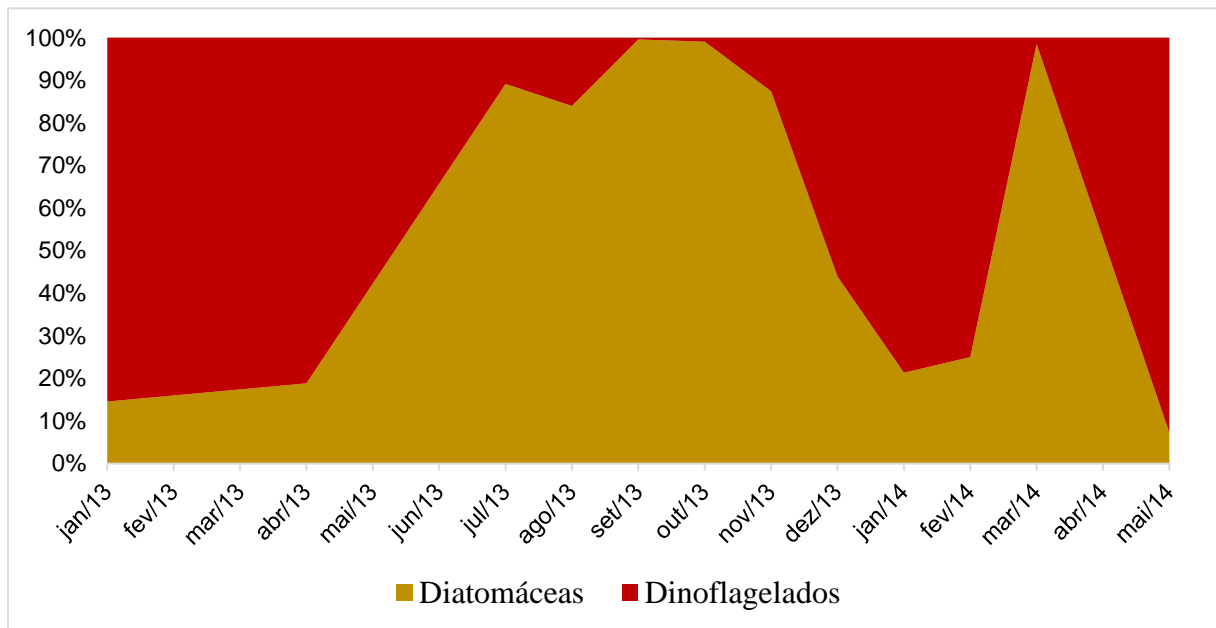


Figura 4 – Contribuição mensal (%) dos grupos taxonômicos mais representativos

O fitoplâncton é constantemente submetido às variações de abundância, composição específica e um dos parâmetros mais utilizados para os estudos ecológicos do plâncton é a diversidade específica, cuja variação informa sobre a estrutura e a dinâmica do sistema (VALENTIN *et al.*, 1991). Os índices de diversidade das espécies de fitoplâncton nos meses de coleta na fazenda de maricultura são apresentados abaixo (Tabela 4; Figura 5).

Tabela 4 – Índices de diversidade das espécies de fitoplâncton nos meses de coleta (d = riqueza de Margalef, J' = equitabilidade, H' = diversidade de Shannon)

Sample	d	J'	H'(loge)
jan/13	1,87	0,73	2,23
abr/13	2,19	0,67	2,12
jul/13	2,09	0,80	2,31
ago/13	2,98	0,74	2,53
set/13	2,02	0,54	1,64
out/13	1,61	0,48	1,41
nov/13	2,50	0,55	1,79
dez/13	1,71	0,81	2,24
jan/14	2,12	0,74	2,34
fev/14	1,39	0,62	1,60
mar/14	2,66	0,13	0,49
mai/14	2,07	0,54	1,73

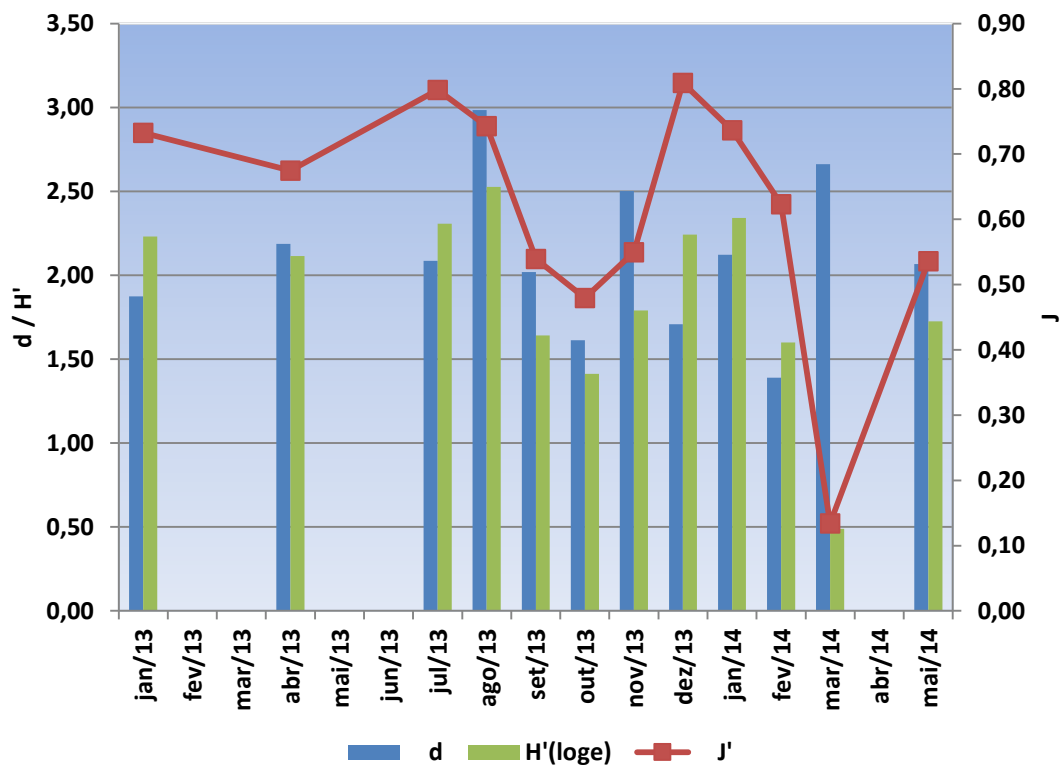


Figura 5 – Índices de diversidade das espécies de fitoplâncton nos meses de coleta (d = riqueza de Margalef, H' = diversidade de Shannon, J' = equitabilidade)

Do que podemos apreender dos dados acima, a riqueza específica variou de 1,39 no mês de fevereiro/2014 a 2,98 no mês de agosto/2013. A diversidade do fitoplâncton variou de 0,49 bits/cel. em março/2014 a 2,53 bits/cel. no mês de agosto/2013. A equitabilidade variou de 0,13 em março/2014 a 0,81 em dezembro/2013.

Margalef estabelece uma teoria sobre a evolução de um ecossistema baseado no seu grau de maturidade (VALENTIN, 1991; RYMER, 2002), dados que serão utilizados na discussão a seguir.

O índice de equitabilidade (J') refere-se ao quão similar as espécies estão representadas na comunidade. Caso todas as espécies tenham a mesma representatividade, a equitabilidade será máxima (MELO, 2008).

Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de similaridade tendo sido eleito o coeficiente de Bray Curtis como o índice de similaridade ideal para tais dados de abundância. Com base nesta matriz, as afinidades entre os meses de coleta foram estabelecidas. De acordo com a análise de Similaridade de Bray Curtis (Figura 6) as amostras do fitoplâncton demonstraram a ocorrência de 3 grupos, denominados Grupo I, II e III demonstrados também a partir do dendograma de classificação do fitoplâncton nos meses de coleta (Figura 7).

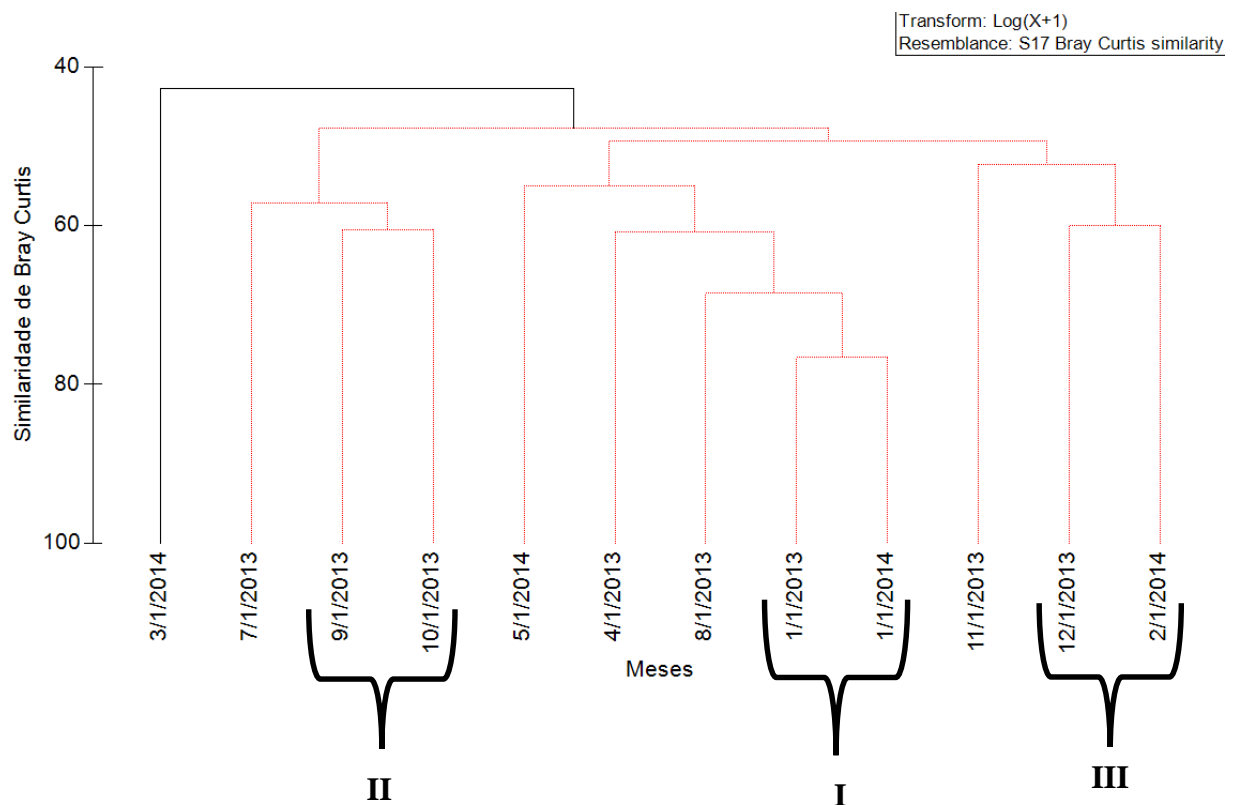


Figura 6 – Análise de Similaridade de Bray Curtis

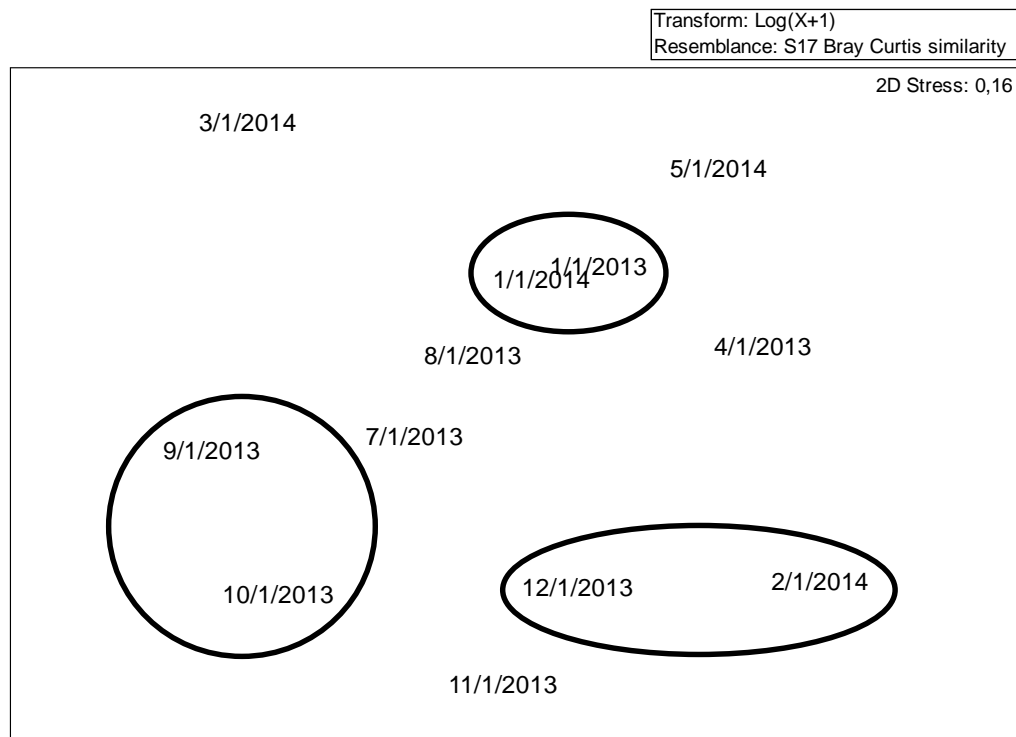


Figura 7 – Dendrograma da classificação do fitoplâncton nos meses de coleta

Grupo I: com uma média de similaridade igual a 80,78% foi formado pelos meses de janeiro/2013 e janeiro/2014. Devido à contribuição de 7,72 % da espécie de dinoflagelado *Prorocentrum micans* com uma média de abundância de 9,10%; contribuição de 7,65% da espécie de dinoflagelado *Scrippsiella sp* com uma média de abundância de 9,04% e contribuição de 7,27% das espécies de dinoflagelado *Protoberidinium spp* com uma média de abundância de 8,92%.

Grupo II: com uma média de similaridade igual a 60,43% foi formado pelos meses de setembro/2013 e outubro/2013. Devido à contribuição de 13,07% da espécie de diatomácea *Compl. Pseudo-nitzschia seriata* com uma média de abundância de 9,43%; contribuição de 10,57% das espécies de diatomácea *Cyclotella spp* com uma média de abundância de 7,35% e contribuição de 9,85% das espécies de diatomácea *Navicula spp* com uma média de abundância de 7,01%.

Grupo III: com uma média de similaridade igual a 59,95% foi formado pelos meses de dezembro/2013 e fevereiro/2014. Devido à contribuição de 14,58% da espécie de dinoflagelado *Prorocentrum micans* com uma média de abundância de 7,37%; contribuição de 13,65% das espécies de dinoflagelado *Protoberidinium spp* com uma média de abundância de 6,76% e contribuição de 12,30% da espécie de dinoflagelado *Ceratium furca* com uma média de abundância de 6,08%.

Ocorrência de espécies potencialmente tóxicas

Foi registrada a ocorrência de espécies potencialmente tóxicas em quase todos os meses de coleta. Somente no mês de setembro/2013 não houve ocorrência de nenhuma das espécies descrita na literatura. As densidades celulares dessas espécies nos meses de coleta encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Densidade celular do fitoplâncton potencialmente tóxico (cél.L⁻¹) em meses de ocorrência.

Fitoplâncton	2013								2014			
	Jan.	Abr.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Mai.
<i>Gymnodinium spp</i>	3.160	4.560	40	120	-	-	-	-	5.200	-	-	-
<i>Dinophysis acuminata</i>	40	160	40	40	-	80	40	40	120	-	-	7.040
<i>D. caudata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	160	-
<i>D. tripos</i>	-	80	-	-	-	-	-	-	-	-	13.680	-
<i>Prorocentrum spp</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.120
<i>Protoperdinium spp</i>	4.720	1.520	40	520	-	320	280	1.440	11.800	520	160	4.120

Bioensaios com camundongos

Os testes de toxicidade adotados consistiram na utilização de extratos ácido e acetônico em bioensaios com camundongos visando detectar a presença de ficotoxinas associadas às algas nocivas, acumuladas na carne desses moluscos. Nos bioensaios com camundongos para as toxinas causadoras de PSP e DSP, são observados os resultados como seguem abaixo (Tabela 6). Nesta tabela também são apresentadas as principais espécies fitoplancônicas potencialmente tóxicas encontradas nos meses de realização dos bioensaios. Neste estudo, o organismo selecionado para monitorar a presença das ficotoxinas da PSP e da DSP foi o mexilhão *Perna perna* pelo fato dos métodos reconhecidos internacionalmente estarem baseados nesta espécie. A legislação brasileira também estabelece o mexilhão como organismo monitor (BRASIL, 2012).

Durante o período amostrado, os bioensaios com camundongos para as toxinas causadoras de PSP foram negativos. Os bioensaios para DSP apresentaram resultado positivo somente no mês de janeiro/2014 e a contagem de microalgas pelo método de UTERMÖHL (1958) para este mesmo mês, constatou a presença de $1,20 \times 10^2$ cel. L⁻¹, do dinoflagelado da espécie *Dinophysis acuminata*, microalga responsável pela produção de toxinas causadoras de DSP.

Tabela 6 – Toxicidade em extratos de mexilhão *P. perna* no período de coleta

Data	Dinoflagelados potencialmente tóxicos detectados na área de cultivo	Densidade celular (cél.L ⁻¹)	Detecção de ficotoxinas	
			DSP	PSP
14/jan/2013	<i>Gymnodinium spp</i>	3.160	n.r.	n.r.
	<i>Dinophysis acuminata</i>	40		
	<i>Prorocentrum spp</i>	4.720		
01/abr/2013	<i>Gymnodinium spp</i>	4.560	n.d.	n.d.
	<i>Dinophysis acuminata</i>	160		
	<i>Dinophysis tripos</i>	80		
	<i>Prorocentrum spp</i>	1.520		
25/jul/2013	<i>Gymnodinium spp</i>	40	n.d.	n.d.
	<i>Dinophysis acuminata</i>	40		
	<i>Prorocentrum spp</i>	40		
28/ago/2013	<i>Gymnodinium spp</i>	120	n.d.	n.d.
	<i>Dinophysis acuminata</i>	40		
	<i>Prorocentrum spp</i>	520		
19/set/2013	-	-	n.d.	n.d.
23/out/2013	<i>Dinophysis acuminata</i>	80	n.d.	n.d.
	<i>Prorocentrum spp</i>	320		
20/nov/2013	<i>Dinophysis acuminata</i>	40	n.d.	n.d.
	<i>Prorocentrum spp</i>	280		
16/dez/2013	<i>Dinophysis acuminata</i>	40	n.d.	n.d.
	<i>Prorocentrum spp</i>	1.440		
30/jan/2014	<i>Dinophysis acuminata</i>	5.200	+	n.d.
	<i>Prorocentrum spp</i>	120		
	<i>Gymnodinium spp</i>	11.800		
21/fev/2014	<i>Prorocentrum spp</i>	520	n.d.	n.d.
21/mar/2014	<i>Dinophysis caudata</i>	160	n.r.	n.r.
	<i>Dinophysis tripos</i>	13.680		
	<i>Prorocentrum spp</i>	160		
09/mai/2014	<i>Dinophysis acuminata</i>	7.040	n.r.	n.r.
	<i>Prorocentrum spp</i>	5.120		
	<i>Prorocentrum spp</i>	4.120		

n.r. não realizado; n.d. não detectado; + positivo.

4. DISCUSSÃO

Comunidade fitoplanctônica

As diatomáceas dominaram a comunidade fitoplanctônica ao longo do período observado, numa média de 72% do total de classes encontradas e 98% da densidade celular total, sendo a abundância de dinoflagelados relativamente baixa. Destacaram-se por suas abundâncias o gênero *Navicula* dentre as diatomáceas e o gênero *Prorocentrum* dentre os dinoflagelados.

Islabão e Odebrecht (2011) apontam que as espécies da Ordem *Prorocentrales* apresentam ampla distribuição na plataforma continental do extremo sul do Brasil sendo relacionada a sua presença à concentração de nutrientes da região. Como as espécies de *Prorocentrum* são autotróficas, pode-se supor que existe uma relação entre a sua densidade com a concentração de nutrientes da área estudada apontando para o fato de serem a espécie dominante na análise de similaridade de Bray Curtis em dois dos três grupos formados (grupo I e grupo III).

Os dinoflagelados foram mais expressivos nos meses quentes de verão. Nesta época do ano a Corrente das Malvinas aflora na costa brasileira na região de Arraial do Cabo devido ao afastamento da Corrente do Brasil pela influência dos ventos do quadrante nordeste (fenômeno da Ressurgência. Possivelmente a concentração de espécies do gênero *Prorocentrum* na região pode estar relacionada com a ressurgência costeira, também reconhecidamente rica em nutrientes.

Neves e Figueiredo (2009) em estudo do fitoplâncton marinho nas proximidades da Enseada do Forno onde situa-se a área de coleta, apontam que a área apresenta uma comunidade “mesclada” em que coexistem espécies do tipo nerítica e oceânica e a dominância das diatomáceas sobre os dinoflagelados constitui um bom índice de caráter nerítico das águas, além da influência da ressurgência na região.

A forma mais direta e comum de se medir diversidade é usar a riqueza de espécies, que consiste no número de espécies que temos numa determinada comunidade ou área de interesse. O índice de diversidade relaciona os valores de abundância entre todas as espécies de uma comunidade, sendo, portanto, sensível às condições de equilíbrio entre as espécies relacionadas (MELO, 2008). Assim, os índices de diversidade combinam dois atributos de uma comunidade biológica: o número de espécies e sua equitabilidade.

A maior diversidade e a maior riqueza das espécies foram observadas no mês de agosto/2013 enquanto que a maior equitabilidade foi observada no mês de dezembro/2013.

Índices de diversidade de Margalef inferiores a 2,00 bits/cél. (estágio 1), indicam que o sistema fitoplanctônico apresenta uma estrutura simples e sua composição específica é caracterizada pela presença de um número reduzido de espécies, com taxa de multiplicação elevada e com dominância de uma ou duas espécies. O estágio 2 seria um estágio intermediário (índices entre 2,00 e 3,00 bits/cél). Neste estágio ocorre uma multiplicação celular intensa, gerando, conseqüentemente, um progressivo esgotamento dos sais minerais. No estágio 3, com índices superiores a 3,00 bits/cél., o sistema fitoplanctônico é caracterizado por uma estrutura estável e equilibrada que atingiu um máximo de maturidade e elevado grau de complexidade (VALENTIN, 1991). Não há uma dominância nítida específica, já que os organismos encontram-se repartidos de forma equilibrada entre as espécies (RYMER, 2002). Neste estudo, cujo índices de diversidade observados apresentaram valores variados (0,49 bits/cel. a 2,53 bits/cel.), pode-se inferir que houve uma seqüência entre estágios de diversidade específica baixa (estágio 1), o que de acordo com o estudo caracteriza a comunidade em início de sucessão e estágios de diversidade específica intermediária (estágio 2). Podemos sugerir, a partir do conceito de diversidade específica, que a área de estudo encontra-se sob processo gradativo de eutrofização. Qualquer aceleração nos processos de um ecossistema reflete em uma diminuição do valor numérico da diversidade (RYMER, 2002).

Segundo Valentin (1991), os índices de equitabilidade são importantes para a interpretação de amostras isoladas. A equitabilidade é empregada para definir a uniformidade da distribuição de abundância de espécies em uma comunidade. Com efeito, reflete o grau de dominância de espécies em uma comunidade, onde esta será baixa quando há ocorrência de poucas espécies altamente dominantes em meio a um grande número de outras espécies, como o observado no mês de março/2014 onde a equitabilidade foi a menor registrada (0,13) e houve a ocorrência em massa de *Navicula spp* na proporção de $1,0 \times 10^6$ cél. L^{-1} de densidade celular. Não havendo espécies altamente dominantes, a equitabilidade será maior. No presente estudo, o índice de equitabilidade maior foi observado em dezembro/2013 (0,81).

A riqueza específica no período observado variou de 13 espécies no mês de fevereiro/2014, onde se registrou o menor índice (1,39) a 30 espécies no mês de agosto/2013, onde se registrou o maior índice (2,98).

Espécies fitoplanctônicas potencialmente tóxicas e bioensaio com camundongos

A dominância de gêneros e espécies de dinoflagelados potencialmente tóxicos no fitoplâncton no mês de janeiro/2014: *Dinophysis acuminata* (média de $1,2 \times 10^2$ cél. L^{-1}) e *Protoberidinium spp* (média de $1,18 \times 10^4$ cél. L^{-1}) pode estar relacionada com a presença de

toxinas para DSP relatada no bioensaio com camundongos para este mês, sendo a maior quantidade detectada nos meses de coleta. A espécie *Dinophysis acuminata* é conhecida como produtora de ácido ocadaico e outras DTXs, podendo acumular estas ficotoxinas em mexilhões mesmo com baixas concentrações celulares na água (TAVARES *et al.*, 2009) podendo o desenvolvimento episódico da DSP ocorrer em concentrações celulares de 10^2 a 10^4 cél.L⁻¹ (CASTRO; MOSER, 2012).

Espécies do gênero *Dinophysis* são bastante relevantes na avaliação de risco de acúmulo de ficotoxinas de DSP em moluscos bivalves. Vários trabalhos registraram a correlação entre presença de *D. acuminata* no fitoplâncton com acúmulo de DSP em moluscos bivalves (MOROÑO *et al.*, 2003; VERSHININ *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2010; HATTENRATH-LEHMANN *et al.*, 2013). Em estudo realizado na Coreia do Sul (Jinhae Bay) em 2007, a espécie *Dinophysis acuminata* estava relacionada com a presença de ácido ocadaico, dinofisistoxina 1, pectenotoxina 2 e yessotoxina acumuladas em moluscos (*Mytilus galloprovincialis* e *Crassostrea gigas*) com concentração de células entre $2-10 \times 10^2$ cél.L⁻¹. Sendo o período de Julho-Agosto (verão) com temperaturas mais altas, onde foram registrados os maiores teores de ficotoxinas nos moluscos (KIM *et al.*, 2010).

Nos meses com prevalência de dinoflagelados encontrou-se gêneros e espécies potencialmente produtores de ficotoxinas entre eles destacam-se: *Prorocentrum spp*, *Dinophysis acuminata*, *D. caudata*, *D. tripos*, *Protooperidinium spp* para toxinas da DSP e *Gymnodinium spp* para toxinas da PSP. A exceção da espécie *Dinophysis tripos* que, com uma única ocorrência na área de cultivo em março/2014, apareceu em grande quantidade em mês com prevalência de diatomáceas. Dinoflagelados potencialmente nocivos como os do gênero *Dinophysis* são bastante associados à Corrente do Brasil sendo sua distribuição dada em função da mistura dessa massa de água com outras mais frias (PROENÇA; MAFRA, 2005; CASTRO; MOSER, 2012).

O bioensaio com camundongos realizado no mês de abril/2013, apresentou resultado negativo para DSP e PSP. Entretanto, passadas mais de 1 hora de observação do bioensaio para PSP, ocorreu morte dos camundongos utilizados. O resultado pode indicar que uma(s) toxina(s) foi detectada na região estudada, não podendo-se afirmar que tenha características químicas semelhantes ao grupo das PSP. Neste mesmo mês foi relatada a presença de *Gymnodinium spp* numa densidade celular total de $4,56 \times 10^3$ cél. L⁻¹, (a segunda maior quantidade registrada em todo o período de coleta) no monitoramento do fitoplâncton, espécie descrita na literatura como um dos gêneros associados à produção de Saxitona e seus congêneres – toxinas da PSP. Essas toxinas são uma classe de alcaloides neurotóxicos que possuem diferentes análogos e diferentes

toxicidades (STRANGHETTI, 2007). Na costa oeste do México, a espécie *Gymnodinium catenatum* é responsável por inúmeros registros de florações com casos fatais associados a PSP (LEWITUS *et al.*, 2012). Neste país, as espécies de *Gymnodinium* impactam diretamente a saúde pública dado o número de intoxicações e mortes por consumo de moluscos com registros desde a década de 70 (MEE *et al.*, 1986). Na Nova Zelândia, as espécies do gênero *Gymnodinium* estão relacionadas a produção de brevitoxinas causadoras de NSP, e de um novo composto tóxico, a Gymnodimina, não associada as síndromes mais conhecidas e que pode produzir falso positivo nos bioensaios com camundongos para NSP e DSP (RHODES *et al.*, 2001). Para o evento de Abril do estudo atual, são necessárias maiores investigações sobre a presença ou não de ficotoxina nos moluscos analisados.

Pode-se correlacionar a ausência de toxinas nos demais bioensaios realizados com a ausência ou baixa dominância das espécies nocivas e potencialmente tóxicas na comunidade fitoplanctônica.

CONCLUSÃO

O cultivo de moluscos bivalves faz parte da cultura de subsistência das comunidades tradicionais da RESEXMAR de Arraial do Cabo sendo de grande relevância econômica e social. O registro da presença de gêneros e espécies do fitoplâncton potencialmente tóxicos no monitoramento realizado na área de cultivo corrobora com o resultado positivo do bioensaio com camundongos no mês de janeiro/2014. A presença destes em densidades baixas em meses de resultado negativo do bioensaio, torna importante a implantação de um programa de monitoramento periódico do fitoplâncton e a verificação da incidência de ficotoxinas na carne dos moluscos bivalves cultivados para a prevenção das síndromes associadas ao consumo desses moluscos quando contaminados.

A caracterização e o conhecimento de quais as espécies potencialmente tóxicas são de ocorrência nas áreas de cultivo de moluscos bivalves através do monitoramento fitoplanctônico nos coloca um passo à frente do controle sanitário dessa produção e colabora para a melhor gestão da atividade de maricultura na área de estudo, pois não é descartada a possibilidade de ocorrerem florações de algas nocivas com a produção de toxinas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a geógrafa Karinna Paz e ao biólogo Vladimir Rojas pela elaboração do mapa da área de estudo e a Viviane Almeida pela elaboração do Abstract. Este estudo foi realizado com o apoio do Departamento de Bioquímica do IBRAG/UERJ, do biólogo Dr. Artur Moes e do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira – IEAPM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-KANDARI, M.; AL-YAMANI, F. Y.; AL-RIFAIE K. Marine Phytoplankton Atlas of Kuwait's Waters. Kuwait Institute for Scientific Research, Kuwait.

ALVES, T. P.; SCHRAMM, M. A.; TAMANAHA, M. S.; PROENÇA, L. A. O. Implementação e avaliação do monitoramento de algas nocivas e de ficotoxinas em um cultivo de moluscos em Florianópolis – SC. *Atlântica*, Rio Grande, 32(1) 71-77. 2010.

ANDRADE, M.M. et al. *Reconstrução paleoambiental da ressurgência costeira de Cabo Frio: dados preliminares. II Congresso sobre Planejamento e Gestão das Zonas Costeiras dos Países de Expressão Portuguesa*, Recife, PE, Brasil. 2003. Disponível em <www.abequa.org.br/trabalhos/quatmar_171.pdf>. Acesso em: 06 de abril de 2014.

AOAC. Paralytic shellfish poison. Official Methods 959.08. Association of Official Analytical Chemists. USA. Arlington. p. 59-61. 2000.

BAINY, A.C.D. Toxicidade de ficotoxinas em organismos aquáticos. Reunião latino-americana sobre algas nocivas. Florianópolis, 2013.

BRASIL. Instrução normativa interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012 - Ministério da Pesca e Aquicultura e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 09/05/2012. Seção 1, p. 55-59. 2012.

CASTRO, N. O.; MOSER, G. A. O. Florações de algas nocivas e seus efeitos ambientais. *Oecologia Australis*. 16 (2): 235-264, Junho. 2012.

DHE. Tábuas de marés - Porto do Forno/RJ. 2014. Disponível em <<http://www.mar.mil.br/dhn/chm/box-previsao-mare/tabuas/>> Acesso em 27/08/2014.

EU. Harmonised Standard Operating Procedure for detection of Lipophilic toxins by Mouse Bioassay. Version 5, June 2009. Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB). Vigo. 2009.

FERREIRA, M. S.; MÁRSICO, E. T.; CONTE JUNIOR, C. A.; MARQUES JÚNIOR, A. N.; MANO, S. B.; SÃO CLEMENTE, S. C. Contaminação por metais traço em mexilhões *Perna perna* da costa brasileira. *Ciência Rural*, 43(6), junho. 2013. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000600011> Acesso em: 07 julho 2014.

FONSECA-KRUEL, V. S.; PEIXOTO, A. L. Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. *Acta bot. bras.* 18(1): 177-190. 2004. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v18n1/v18n1a15>> Acesso em: 06 abril 2014.

FRANCHINI, A.; MALAGOLI, D.; OTTAVIANI, E. Targets and Effects of Yessotoxin, Okadaic Acid and Palytoxin: A Differential Review. *Marine Drugs*, 8: 658-677. 2010. Disponível em <www.mdpi.com/journal/marinedrugs> Acesso em: 07 set. 2014.

HALLEGRAEFF, G.M. Harmful algal blooms: a global overview. In: HALLEGRAEFF, G.M.; ANDERSON, D.M.; CEMBELLA A.D. (eds.). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. IOC Manuals and Guides, n. 33, UNESCO, Paris, France. 551 p. 2003.

HALLEGRAEFF, G.M.; ANDERSON, D.M.; A.D. CEMBELLA. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. IOC Manuals and Guides, n. 33, UNESCO. 1995.

HATTENRATH-LEHMANN, T. K.; MARCOVALA, M. A.; BERRY, D. L., FIRE, S.; WANG, Z.; MORTONB, S. L.; GOBLER, C. J. The emergence of *Dinophysis acuminata* blooms and DSP toxins in shellfish in New York waters. *Harmful Algae*, 26: 33–44. 2013.

IBGE. Estimativas populacionais para os municípios brasileiros. 2012. Disponível em <www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2012/> Acesso em: 02 abril 2014.

ISLABÃO, C. A.; ODEBRECHT, C. Dinoflagelados (Peridinales, Prorocentrales) do Microplâncton na plataforma continental e talude do extremo sul do Brasil (inverno 2005, verão 2007) *Biota Neotrop.* 11(3). 2011. Disponível em: <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n3/pt/abstract?article=bn02511032011>> Acesso em: 13 junho 2014.

KIM, J.H.; LEE, K.J.; SUZUKI, T.; KANG, Y.S.; KIM, P.H.; SONG, K.C.; LEE, T.S. Seasonal variability of lipophilic shellfish toxins in bivalves and water, and abundance of *Dinophysis* spp in Jinhae Bay, Korea. *Journal of Shellfish Research*, 29(4): 1061-1067. 2010.

KRISHNAKUMAR, P. K.; SASIKUMAR, G.; BHAT, G. S.; ASOKAN, D. P. K. Biomarkers of environmental contaminants in field population of green mussel (*Perna viridis*) from Karnataka–Kerala coast (South West coast of India). *Ecotoxicology* 15: 347-352. 2006.

LEWITUS, A. J.; HORNER, R. A.; CARON, D. A.; GARCIA-MENDOZA, E.; HICKEY, B. M.; HUNTER, M.; HUPPERT, D. D.; KUDELA, R. M.; LANGLOIS, G. W.; LARGIER, J.L.; LESSARD, E.J.; RALONDE, R.J; JACK RENSEL, J.E.; STRUTTON, P.G.; TRAINER, V.L.; TWEDDLE, J.F. Harmful algal blooms along the North American west coast region: History, trends, causes, and impacts. *Harmful Algae* 19: 133–159. 2012.

LOURENÇO, A. J.; FERREIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; ROSA, C. A. R.; G. M. DIREITO; G. M. OLIVEIRA. Evidência de depuração natural da toxina diarreica ácido ocadaico em mexilhões *Perna perna* (LINNÈ, 1758) cultivados em fazenda de maricultura na baía de Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.14, n.2, p.91-94, 2007. Disponível em: <<http://www.uff.br/rbcv/site/index.php/artigos/buscar>>. Acesso em: 17 julho 2014.

MARINÉ, G. F.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. M.; FERREIRA, V. M. Detecção de ácido ocadaico em cultivo de mexilhões *Perna perna*, Angra dos Reis, RJ. *Ciência Rural*, Santa Maria, Online. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2009nahead/a426cr1947.pdf>> Acesso em: 17 julho 2014.

MEE, L.D.; DIAZ-GONZALEZ, G.; ESPINOSA-DAMIAN, M. Paralytic shellfish poisoning with *Gymnodinium catenatum* red tide on the Pacific coast of Mexico. *Marine Environment Research*. 19: 77-92. 1986.

MELO, A.S. O que ganhamos ‘confundindo’ riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? *Biota Neotrop.*, vol. 8, no. 3, Jul./Set. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bn/v8n3/v8n3a01>> Acesso em: 18 julho 2014.

MOROÑO, A.; ARÉVALO, F.; FERNÁNDEZ, M.L. MANEIRO, J.; PAZOS, Y.; SALGADO, C.; BLANCO, J. Accumulation and transformation of DSP toxins in mussels

Mytilus galloprovincialis during a toxic episode caused by *Dinophysis acuminata*. *Aquatic Toxicology* 62: 269-280. 2003.

NEVES, M. H. C. B.; FIGUEIREDO, D. G. Estudo do fitoplâncton marinho na área adjacente ao Porto do Forno em Arraial do Cabo (RJ) in EIA/RIMA da Ampliação do Porto do Forno, Arraial do Cabo, RJ. 2009.

PROENÇA, L. A. O.; FONSECA, R. S.; PINTO, T. O. Microalgas em área de cultivo do litoral de Santa Catarina. São Carlos: *RiMa*. 90 p. 2011.

PROENÇA, L. A. O.; SCHRAMM, M. A. Limites seguros para Ficotoxinas em moluscos bivalves conhecendo a doença para elaborar estratégias de controle. *Panorama da Aquicultura*, 2013. Disponível em: < <http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2134> Acesso em: 20 junho 2014.

PROENÇA, L.A.; SCHMITT, F.; GUIMARÃES, S.P.; RÖRIG, L.R. Análise de toxinas diarreicas em duas espécies de *Prorocentrum (dinophyceae)* isoladas em área de cultivo de moluscos. *NOTAS TÉCN. FACIMAR*, 3: 41-45, 1999.

RHODES, L. L.; MACKENZIE, A. L.; KASPAR, H. F. TODD, K. E. Harmful algae and mariculture in New Zealand. *ICES Journal of Marine Science*, 58: 398-403. 2001.

RYMER, F. Levantamento taxonômico da comunidade fitoplanctônica na Baía de Sepetiba, RJ. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Mar) – Universidade Santa Úrsula, Rio de Janeiro, 2002.

SCHRAMM, M. A., TAMANAHA, M. S., BEIRÃO, L. H., PROENÇA, L. A. O. Toxinas paralisantes em mexilhão *Perna perna* em áreas de cultivo da Costa Sul do Brasil: estudo de caso. *Alim. Nutr.*, Araraquara 17(4): 443-450, out./dez. 2006.

SCHRAMM, M. A.; PROENÇA, L. A. O.; ALVES, T. P.; PINTO, T. O. Monitoramento de Microalgas Nocivas e Ficotoxinas em Santa Catarina. Reunião latino-americana sobre algas nocivas. Florianópolis, 2013.

SILVA, G. L.; DOURADO, M. S.; CANDELLA, R. N. Estudo preliminar da climatologia da ressurgência na região de Arraial do Cabo, RJ. Resumo expandido do XI encontro nacional dos grupos PET. Universidade Federal de Santa Catarina. Resumo expandido, 11p. 2006. Disponível em:

- <http://enapet.ufsc.br/anais/ESTUDO_PRELIMINAR_DA_CLIMATOLOGIA_DA_RESSURGENCIA_NA_REGIAO_DE_ARRAIAL_DO_CABO_RJ.pdf> Acesso em: 01 julho 2014.
- STRANGHETTI, B.G. Monitoração toxinológica do pescado comercializado nos municípios de São Sebastião e Caraguatatuba, SP. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- TOMAS, C. R. Identifying Marine Phytoplankton. Academic Press, USA. 1997.
- UTERMOHL, H. Zur Vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodic. Mitteilungen Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie 9: 1-39. 1958.
- VALE. P. Biotoxinas marinhas. Marine biotoxinas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinária*. 99:(549) 03-18. 2004.
- VALENTIN, L. L. *et al.* A diversidade específica para a análise das sucessões fitoplanctônicas. Aplicação ao ecossistema da Ressurgência de Cabo Frio (RJ). 6:(1-2), p. 7-26. *Nerítica*, Curitiba. 1991.
- VERSHININ, A.; MORUCHKOV, A.; MORTON, S. L.; LEIGHFIELD, T. A.; QUILLIAM, M. A.; RAMSDELL, J. S. Phytoplankton composition of the Kandalaksha Gulf, Russian White Sea: *Dinophysis* and lipophilic toxins in the blue mussel (*Mytilus edulis*). *Harmful Algae* 5: 558–564. 2006.
- YASUMOTO, T., MURATA, M., OSHIMA, Y., MATSUMOTO, G.K., CLARDY, J. Diarrhetic shellfish poisoning. In Ragelis (ed.), *Seafood Toxins*. ACS Symposium Series 262. American Chemical Society, Washington, DC. 207-214. 1984.
- YASUMOTO, T., OSHIMA, Y. E YAMAGUCHI, M. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44(11): 1249-1255. 1978.
- WIESE, M.; D'AGOSTINO, P. M.; MIHALI, T. K.; MOFFITT, M. C.; NEILAN, B. A. Neurotoxic Alkaloids: Saxitoxin and Its Analogs. *Marine Drugs*, 8: 2185-2211. 2010. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/marinedrugs> Acesso em: 07 set. 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma vez que o cultivo de moluscos bivalves faz parte da cultura de subsistência da comunidade local, o conhecimento da legislação que regulamenta a produção desses animais deve corroborar para a implantação de um programa de monitoramento permanente da área de cultivo de forma a evitar episódios de contaminação dos consumidores destes animais para a prevenção das síndromes associadas ao consumo desses moluscos quando contaminados.

Embora espécies não tóxicas tenham sido abundantes na comunidade fitoplanctônica durante o período observado, o registrado da presença de toxinas nos moluscos durante o período pesquisado, no mês de janeiro de 2014 e a ocorrência de espécies tóxicas, próxima a área de cultivo, torna o monitoramento necessário para a prevenção e o controle, pois existe a possibilidades de ocorrerem florações de algas nocivas com a produção de toxinas da PSP e a reincidência de eventos de DSP em moluscos cultivados nesta região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, T. P., SCHRAMM, M. A., TAMANAHA, M. S., PROENÇA, L. A. O. Implementação e avaliação do monitoramento de algas nocivas e de ficotoxinas em um cultivo de moluscos em Florianópolis – SC. *Atlântica*, Rio Grande, 32(1): 71-77. 2010.
- FERREIRA, M. S.; MÁRSICO, E. T.; CONTE JUNIOR, C. A.; MARQUES JÚNIOR, A. N.; MANO, S. B.; SÃO CLEMENTE, S. C. Contaminação por metais traço em mexilhões *Perna perna* da costa brasileira. *Ciência Rural*, 43(6): 1012-1020. 2013.
- KRISHNAKUMAR, P. K.; SASIKUMAR, G.; BHAT, G. S.; ASOKAN, D. P. K. Biomarkers of environmental contaminants in field population of green mussel (*Perna viridis*) from Karnataka–Kerala coast (South West coast of India). *Ecotoxicology* 15: 347-352. 2006.
- MARINÉ, G. F.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. M.; FERREIRA, V. M. Detecção de ácido ocadaico em cultivo de mexilhões *Perna perna*, Angra dos Reis, RJ. *Ciência Rural*, Santa Maria, Online. 2009. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/cr/2009nahead/a426cr1947.pdf> Acesso em: 17 julho 2014.
- RESGALLA JR., C.; MORAES, R. B. C. Uso em ensaios ecotoxicológicos. In: RESGALLA JR., C.; WEBER, L. I.; CONCEIÇÃO, M. B. (eds). O Mexilhão *Perna perna* (L.). Biologia, ecologia e aplicações. Rio de Janeiro: *Interciência*. p. 253-267. 2008.
- SCHRAMM, M. A., TAMANAHA, M. S., BEIRÃO, L. H., PROENÇA, L. A. O. Toxinas paralisantes em mexilhão *Perna perna* em áreas de cultivo da Costa Sul do Brasil: estudo de caso. *Alim. Nutr.*, Araraquara 17(4): 443-450, out./dez. 2006.