



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - IBIO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MESTRADO EM BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL

Filogeografia do dinoflagelado tóxico *Ostreopsis cf. ovata* (Dinophyceae).

Lohayne Braga Moreira

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Salgueiro.

Coorientadoras: Profa. Dra. Maria Lucia Lorini e Profa. Dra. Silvia Nascimento.

Rio de Janeiro

2022

Lohayne Braga Moreira

Filogeografia do dinoflagelado tóxico *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Salgueiro.

Coorientadoras: Profa. Dra. Maria Lucia Lorini e Profa. Dra. Silvia Nascimento.

Rio de Janeiro

2022

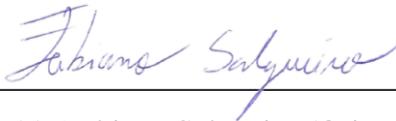
Lohayne Braga Moreira

**FILOGEOGRAFIA DO DINOFLAGELADO TÓXICO *OSTREOPSIS CF. OVATA*
(DINOPHYCEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do título de Mestre(a) em Ciências Biológicas.

Aprovada em 29 de agosto de 2022.

Banca Examinadora



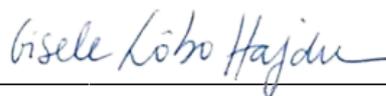
Dr(a). Fabiano Salgueiro (Orientador)

(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO)



Dr(a). Joel Campos de Paula

(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO)



Dr(a). Gisele Hajdu

(Universidade do Estado do Rio de Janeiro/UERJ)

Catálogo informatizado pelo(a) autor(a)

M835 Moreira, Lohayne Braga
 Filogeografia do dinoflagelado tóxico
 Ostreopsis cf. ovata (Dinophyceae) / Lohayne Braga
 Moreira. --Rio de Janeiro, 2022.

 61

 Orientador: Fabiano Salgueiro.
 Coorientadoras: Silvia Nascimento e
 Maria Lucia Lorini.

 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do
 Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
 em Ciências Biológicas, 2022.

 1. DNA ribossomal. 2. Floração de Algas
 Nocivas. 3. Ovatoxina. I. Salgueiro, Fabiano ,
 orient. II. Nascimento , Silvia , coorient. III.
 Lorini , Maria Lorini coorient.

RESUMO

As florações de algas nocivas (FANs) são fenômenos naturais e incluem espécies produtoras de toxinas que podem afetar severamente animais, incluindo humanos. Porém, as espécies tóxicas não causam eventos prejudiciais em todos os locais em que estão, podendo causar eventos de mesma intensidade em locais diferentes. Refletindo assim, a natureza multifacetada de resposta às FANs a diversos fatores ambientais e as suas mudanças ao longo do tempo são de difícil compreensão. O aumento da ocorrência de FANs em diversas regiões costeiras temperadas e tropicais, acarreta numa série de problemas ambientais, como a intoxicação de animais marinhos, de seres humanos e o comprometimento de atividades econômicas como aquicultura e pesca. Os principais organismos formadores de FANs em sistemas marinhos são os dinoflagelados. Nas florações do dinoflagelado bentônico *Ostreopsis cf. ovata*, pode haver mortalidade em massa dos organismos marinhos por intoxicação com ovatoxinas. O presente trabalho propõe estudar os padrões de distribuição espacial da diversidade genética de *O. cf. ovata*, contribuindo para uma melhor compreensão da distribuição geográfica contemporânea da espécie e, por consequência, das suas florações. As análises filogeográficas com base nas sequências de três loci ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10, disponíveis no Genbank, permitiram a identificação de 251 cepas distribuídas em 126 pontos de amostragem. As cepas analisadas foram localizadas nos três Oceanos, provenientes de sete reinos biogeográficos da zona tropical, e em parte da zona temperada: América do Sul Temperado, Atlântico Norte Temperado, Atlântico Tropical, Indo-Pacífico Central, Indo-Pacífico Ocidental, Pacífico Norte Temperado e Pacífico Oriental Tropical. A maioria das cepas foram provenientes de três reinos, sendo 34,6% do Indo-Pacífico, 32,2% do Atlântico Norte Temperado e 23,1% do Atlântico Tropical. Houve predominância de ocorrência das cepas em reinos de superfície de águas mais quentes, de 23 a 36°C, e salinidade superior a 31, com PSS predominantemente 34 na maioria das áreas. Os três loci analisados produziram árvores com topologias e subclados (A, B, C, D, E e F) de *O. cf. ovata* usualmente descritos na literatura. As redes de haplótipos de *O. cf. ovata* retornou 25 haplótipos do loci ITS, 33 haplótipos do LSU-D1D3 e 14 haplótipos do LSU-D8D10. A princípio as linhagem A e E talvez seriam cosmopolitas, B seria mais restrita ao Oceano Atlântico. Três linhagens seriam exclusivas: C ao Indo-Pacífico, D ao Oceano Pacífico e a F ao Oceano Atlântico. Portanto, *O. cf. ovata* apresenta estrutura filogeográfica com linhagens divergentes e indícios de distribuição alopátrica e a presença de trocas genéticas recentes entre populações localizadas em regiões biogeográficas distintas. Sendo estes padrões possivelmente explicados por

características da espécie como a predominância da reprodução assexuada, encistamento, e por diferentes fatores que facilitam a dispersão, como o carreamento de cistos por água de lastro de navios e dispersão de cistos aderidos a substratos naturais e artificiais.

ABSTRACT

Harmful algae blooms (HABs) are natural phenomena and include toxin producing species that can severely affect animals, including humans. However, toxic species do not cause harmful events in all places where they are, and can cause events of the same intensity in different locations. Thus, the multifaceted nature of HABs response to various environmental factors and their changes over time are difficult to understand. The increase in the occurrence of HABs in several temperate and tropical coastal regions leads to a series of environmental problems, such as the poisoning of marine animals, humans and the compromise of economic activities such as aquaculture and fishing. The main triggering organisms of the HABs in marine systems are the dinoflagellates. In the blooms of the benthic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata*, there may be mass mortality of marine organisms from intoxication with ovatoxin. The present work proposes to study the patterns of a spatial distribution of the genetic diversity of *O. cf. ovata*, contributing to a better understanding of the contemporary geographic distribution of the species and, consequently, of this blooms. Phylogeographic analyses based on sequences of three loci ITS, LSU-D1D3 and LSU-D8D10, available at Genbank, allowed the identification of 251 strains distributed in 126 sampling points. The strains analyzed came from the three oceans from seven biogeographic ecoregions located in the tropical zone, and in part of the temperate zone: Temperate South America, Temperate North Atlantic, Tropical Atlantic, Central Indo Pacific, Western Indo Pacific, Temperate North Pacific and Tropical Eastern Pacific. Most strains came from three ecoregions, 34.6% from the Indo-Pacific, 32.2% from the Temperate North Atlantic and 23.1% from the Tropical Atlantic. There was a predominance of occurrence of strains in surface ecoregions with warmer waters from 23 to 36°C and salinity PSS predominantly above 34 in most areas. The phylogenetic reconstructions performed for the three loci analyzed produced trees with topologies and subclades (A, B, C, D and E) of *O. cf. ovata* usually described in the literature. The haplotype networks of *O. cf. ovata* returned 25 haplotypes of ITS loci, 33 haplotypes from LSU-D1D3 and 14 haplotypes from LSU-D8D10. At first, lineages A and E would perhaps be cosmopolitan, B would be more restricted to the Atlantic

Ocean. Three lineages would be unique: C to the Indo-Pacific, D to the Pacific Ocean, and F to the Atlantic Ocean. Therefore, *O. cf. ovata* presents a phylogeographic structure with divergent lineages and evidence of allopatric distribution and the presence of recent genetic exchanges between populations located in different biogeographic regions. These patterns are possibly explained by characteristics of the species such as the predominance of asexual reproduction and encystment, and by different factors that facilitate dispersion, such as the carrying of cysts by ballast water from ships and carrying cysts through natural and artificial substrates.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. HIPÓTESES.....	14
3. OBJETIVOS.....	14
3. Objetivo geral.....	15
3.2. Objetivos específicos.....	15
4. METODOLOGIA.....	15
4.1. Construção do banco de sequências.....	15
4.1.2. Seleção e construção do banco de dados.....	15
4.1.3. Elaboração do banco de dados.....	16
4.2. Reconstruções filogenéticas.....	16
4.3. Análises filogeográficas.....	17
4.4. Divulgação científica.....	18
5. RESULTADOS.....	18
5.1. Banco de dados.....	18
5.2. Reconstruções filogenéticas.....	20
5.3. Análises filogeográficas.....	30
6. DISCUSSÃO.....	40
7. CONCLUSÕES.....	48
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
9. ANEXOS – MATERIAL SUPLEMENTAR.....	56

1. INTRODUÇÃO

As florações de algas nocivas (FANs) são um fenômeno natural que incluem espécies produtoras de toxinas que podem afetar severamente animais, incluindo humanos (GEOHAB, 2012). Inicialmente, o aumento da extensão geográfica das FANs, sua intensidade e persistência, foi relacionada diretamente às ações antrópicas tais como, as mudanças climáticas, a eutrofização costeira, a multiplicação das áreas de aquicultura e o transporte de organismos em água de lastro de navios (CASTRO & MOSER, 2012). Porém, as espécies formadoras de FANs podem variar de uma região para outra, e estas regiões podem ser afetadas por mais de uma espécie formadora de FANs (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021). Vale ressaltar, que mesmo havendo espécies tóxicas nas regiões, não necessariamente haverá eventos prejudiciais nesses locais (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021). Além disso, a intensidade dos eventos causados pela mesma espécie, podem ser distintos em regiões distintas devido a respostas diferentes atreladas a diversos fatores ambientais e as suas mudanças ao longo do tempo (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021). Assim, comparando diferentes regiões de ocorrência de FANs que sejam aparentemente semelhantes, por exemplo, que gerem expansões e persistência das FANs, a princípio pode ser difícil gerar explicações (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021). Desta forma, percebe-se como a natureza das FANs é multifacetada (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021).

O aumento de ocorrência das FANs em regiões costeiras temperadas e tropicais acarreta numa série de problemas ambientais, como a intoxicação de animais marinhos, de seres humanos e o comprometimento de atividades econômicas como aquicultura e pesca (ACCORONI & TOTTI, 2016; PICHIERRI *et al.*, 2017). Sendo assim, os problemas globais das FANs têm impactos sociais significativos, e a tendência de exploração de recursos marinhos costeiros desencadeia no aumento desses impactos nocivos (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021). Desta forma, a associação entre as FANs, alterações no clima, eutrofização e aquicultura, precisa de mais estudos (HALLEGRAEFF *et al.*, 2021).

Os principais organismos desencadeadores marinhos das FANs são os dinoflagelados (CASTRO & MOSER, 2012). Os dinoflagelados bentônicos, como *Ostreopsis ovata* Fukuyo, 1981 crescem principalmente sobre macroalgas e substratos como: rochas, corais e seus fragmentos, conchas de moluscos e areia (FAUST, 1999; ABDENNADHER *et al.*, 2017). *Ostreopsis* é um gênero de dinoflagelados tropical que foi descrito a partir do Golfo da Tailândia (Sião) frequentemente registrado em zonas temperadas quentes (CHOMÉRAT *et al.*, 2022). Esse aumento de registros foi apontado como consequência das alterações climáticas das últimas décadas (CHOMÉRAT *et al.*, 2022). As espécies do gênero *Ostreopsis* Schmidt, 1901 ocorrem

em latitudes tropicais e temperadas (TIBIRIÇÁ, 2020). Algumas espécies de *Ostreopsis* são tóxicas, como *Ostreopsis lenticularis* Y. Fukuyo 1981, *Ostreopsis mascarenensis* Quod 1994, *Ostreopsis ovata* e *Ostreopsis siamensis* Johs. Schmidt 1901 (ALGAEBASE, 2022).

O gênero *Ostreopsis* é identificado na microscopia de luz por apresentar forma típica de lágrima (CHOMÉRAT *et al.*, 2022). Vários filogrupos, que correspondem a diferentes espécies de *Ostreopsis* compartilham caracteres morfológicos muito semelhantes, incluindo a organização tecal das placas, e dificilmente podem ser distinguidas por microscopia óptica (CHOMÉRAT *et al.*, 2022; SATO *et al.*, 2011). O que contribui para a dificuldade de se identificar espécies do gênero, pois existe alto grau de variabilidade morfológica dentro de uma determinada espécie (CHOMÉRAT *et al.*, 2022). Tornando a utilização de microscopia eletrônica e métodos genéticos essenciais para uma identificação viável a nível da espécie (SATO *et al.*, 2011; VERMA *et al.*, 2016; ABDENNADHER *et al.*, 2017). As características que foram usadas originalmente na descrição das espécies do gênero podem variar, o que levou a redescritção de algumas espécies (SATO *et al.*, 2011). Na microscopia eletrônica a diferenciação morfológica das espécies não crípticas é realizada pelo tamanho e o arranjo das placas (SATO *et al.*, 2011). Geneticamente as espécies são diferentes. Assim, a associação entre as abordagens morfológica e molecular tem permitido o reconhecimento dessas espécies (VERMA *et al.*, 2016; ABDENNADHER *et al.*, 2017). E a análise genética permite a identificação de espécies crípticas do gênero *Ostreopsis*.

A análise de DNA ribossômico é uma das mais estudadas mundialmente para eucariotos e microbianos tóxicos (PENNA *et al.*, 2010). Nas análises moleculares frequentemente são usados segmentos do DNA ribossomal (rDNA), como sequências do espaçador transcrito interno do rDNA (ITS – *Internal Transcribed Spacer* – rDNA), da subunidade maior do rDNA (LSU – *Large-Subunit* – rDNA) e da subunidade menor do rDNA (SSU – *Small-Subunit* – rDNA). Estes loci são amplamente utilizados em trabalhos de sistemática e filogenia molecular de *Ostreopsis* e outros dinoflagelados (PENNA *et al.*, 2005; SATO *et al.*, 2011; TAWONG *et al.*, 2014; VERMA *et al.*, 2016; NASCIMENTO *et al.*, 2020). Estudos filogenéticos baseados em genes ribossomais (LSU) e espaçadores transcritos intergênicos (regiões ITS) revelaram a existência de pelo menos 13 clados principais de *Ostreopsis* que poderiam corresponder a espécies diferentes (CHOMÉRAT, *et al.* 2020; NGUYEN-NGOC *et al.*, 2021; BOISNOIR *et al.*, 2022). No entanto, até o momento, alguns desses genótipos ainda não foram taxonomicamente identificados devido a morfologias crípticas ou à falta de informações morfológicas (SATO *et al.*, 2011; TAWONG *et al.*, 2014; CHOMÉRAT, *et al.* 2020). Estudos recentes esclareceram com sucesso a identidade taxonômica de alguns desses ribotipos, mas

ainda precisa-se esclarecer os genótipos restantes desse complexo de espécies (CHOMÉRAT, *et al.* 2020).

Até o momento duas espécies de *Ostreopsis* foram identificadas no Brasil: *Ostreopsis* cf. *ovata* (NASCIMENTO *et al.*, 2012a, NASCIMENTO *et al.*, 2012b, TIBIRIÇÁ *et al.*, 2019; NASCIMENTO *et al.*, 2020) e *Ostreopsis lenticularis* (BORSATO *et al.*, 2020). *Ostreopsis* cf. *ovata* foi identificado ocorrendo na costa brasileira de Pernambuco ao Paraná. Em Armação dos Búzios e Arraial do Cabo (Rio de Janeiro), Ubatuba (São Paulo), Salvador e Mata de São João (Bahia), Tibau do Sul (Rio Grande do Norte), nos Arquipélagos de Fernando de Noronha, São Pedro e São Paulo, na Ilha da Trindade (NASCIMENTO *et al.*, 2020) e em Arquipélago de Currais (Paraná) (TIBIRIÇÁ *et al.*, 2019). As principais toxinas produzidas por *O.* cf. *ovata* são as ovatoxinas (OVTXs), análogos da palitoxina (PLTX) (RHODES *et al.*, 2000; TARTAGLION *et al.*, 2017). A PLTX é apontada como uma potente toxina marinha conhecida na atualidade (TARTAGLION *et al.*, 2017). A literatura mostra que há variabilidade nos perfis dessas toxinas dentro da mesma espécie, possivelmente devido às variações genéticas e adaptações fisiológicas de cepas em condições ambientais distintas (GUERRINI *et al.*, 2010).

Nas florações de *O.* cf. *ovata* pode haver mortalidade em massa dos organismos marinhos por intoxicação com OVTXs (PICHIERRI *et al.*, 2016). Estudos relataram a mortalidade de diversos organismos marinhos durante as florações de *O. ovata*, em particular observou-se a perda de espinhos e mortalidade ouriços-do-mar (SHEARS & BABCOCK, 2003), relatadas na Nova Zelândia (SHEARS & ROSS, 2009), em regiões banhadas pelo mar mediterrâneo (SANSONI, 2003) e no Brasil (GRANELI *et al.*, 2002).

As OVTXs promovem intoxicação por contato direto com a água do mar e/ou por aerossóis marinhos (PICHIERRI *et al.*, 2016). A maioria das intoxicações causadas por *O.* cf. *ovata* ocorre por inalação de aerossóis, e também decorrem por contato direto da pele, olhos ou nariz com as toxinas presentes na água, o que acarreta em irritação (HOFFMANN *et al.* 2008; TICHADOU *et al.* 2010; CHAUDHRY *et al.*, 2016; CALON *et al.*, 2019). Outros sintomas relatados por pessoas expostas as florações de *O.* cf. *ovata* foram dificuldade respiratória, náuseas, febre, tontura, tosse seca, dores de cabeça e mal-estar geral (CHOMÉRAT *et al.*, 2022). Vale ressaltar que os sintomas desapareceram dentro de dois dias, após o afastamento das pessoas da área da floração de *O.* cf. *ovata*, sem a necessidade de tratamento medicamentoso (CHOMÉRAT *et al.*, 2022).

Ostreopsis cf. *ovata* foi registrado a primeira vez na Polinésia Francesa, nas Ilhas Ryukyu no Japão (FUKUYO, 1981). Atualmente, sabe-se que o complexo *O.* cf. *ovata* pode ser dividido em pelo menos cinco subclados principais, de acordo com as reconstruções filogenéticas

baseadas no rDNA (ITS e LSU): A, B, C, D e E (Figura 1) (NASCIMENTO *et al.*, 2020). As cepas brasileiras agrupam-se nos subclados A e B. O subclado A é composto por sequências provenientes do Oceano Atlântico, Mediterrâneo e Pacífico, e inclui a maioria das cepas brasileiras sequenciadas do Rio de Janeiro, Bahia e São Paulo. A cepa brasileira UNR-10, proveniente do Tibau do Sul - RN, é a única a agrupar no subclado B, juntamente com sequências de cepas da Grécia, Portugal e Japão (Figura 1) (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

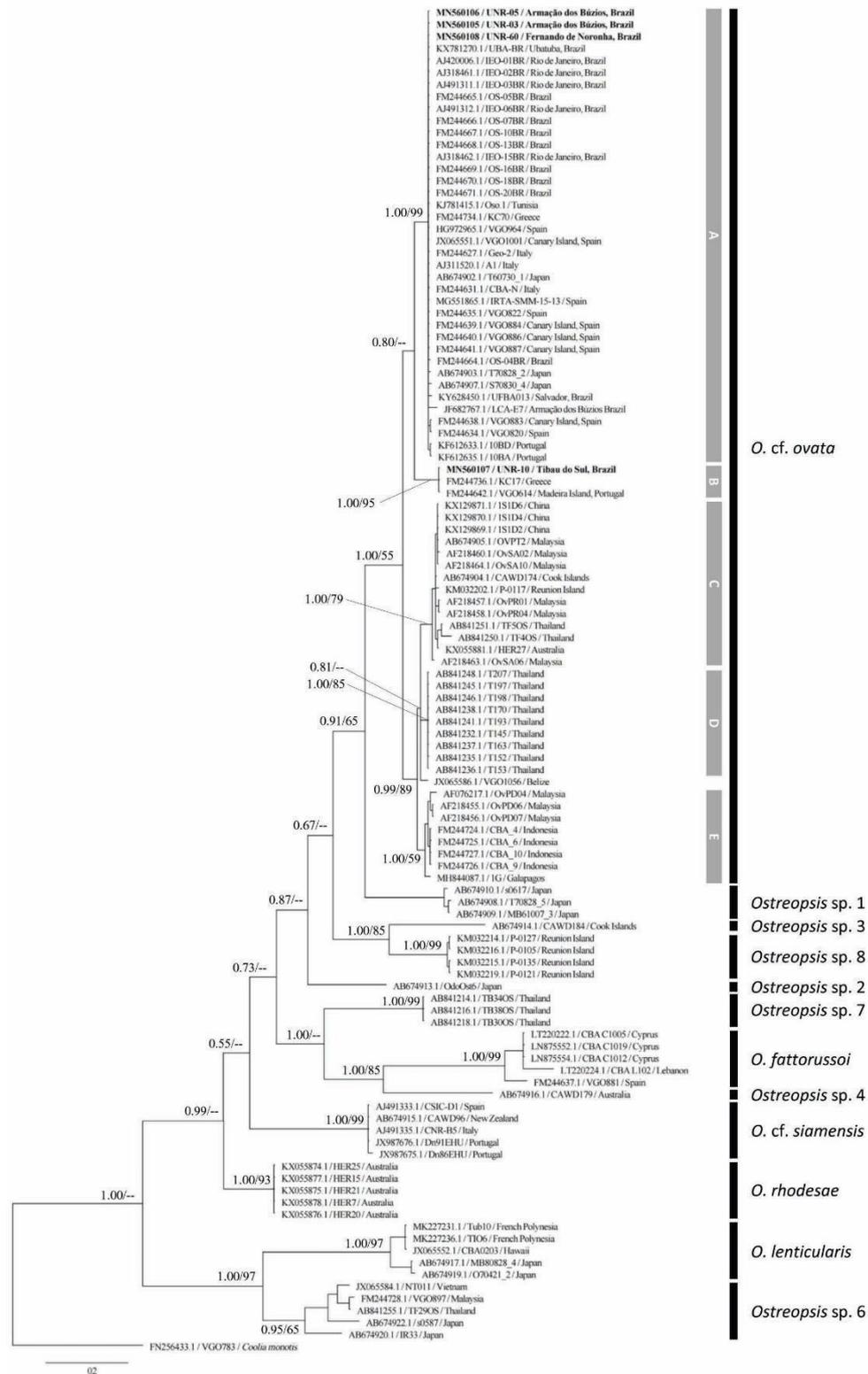


Figura 1. Árvore filogenética baseada em Inferência Bayesiana (BI) utilizando sequências ITS de cepas de *Ostreopsis*. Os números nos ramos representam os valores de probabilidade posterior (PP) e “bootstrap” (BS) (“cut-off” = 50%). Retirado de NASCIMENTO *et al.*, (2020).

De acordo com TIBIRIÇÁ (2020) o complexo *O. cf. ovata* pode ser dividido em seis subclados principais de acordo com as reconstruções filogenéticas baseadas no rDNA (ITS e LSU-D1D3 e LSU-D8D10). Na árvore do ITS, percebemos as linhagens: A, B, C, D, E e F. Nesta árvore, as cepas brasileiras agrupam-se nos subclados A, B, E e F (Figura 2).

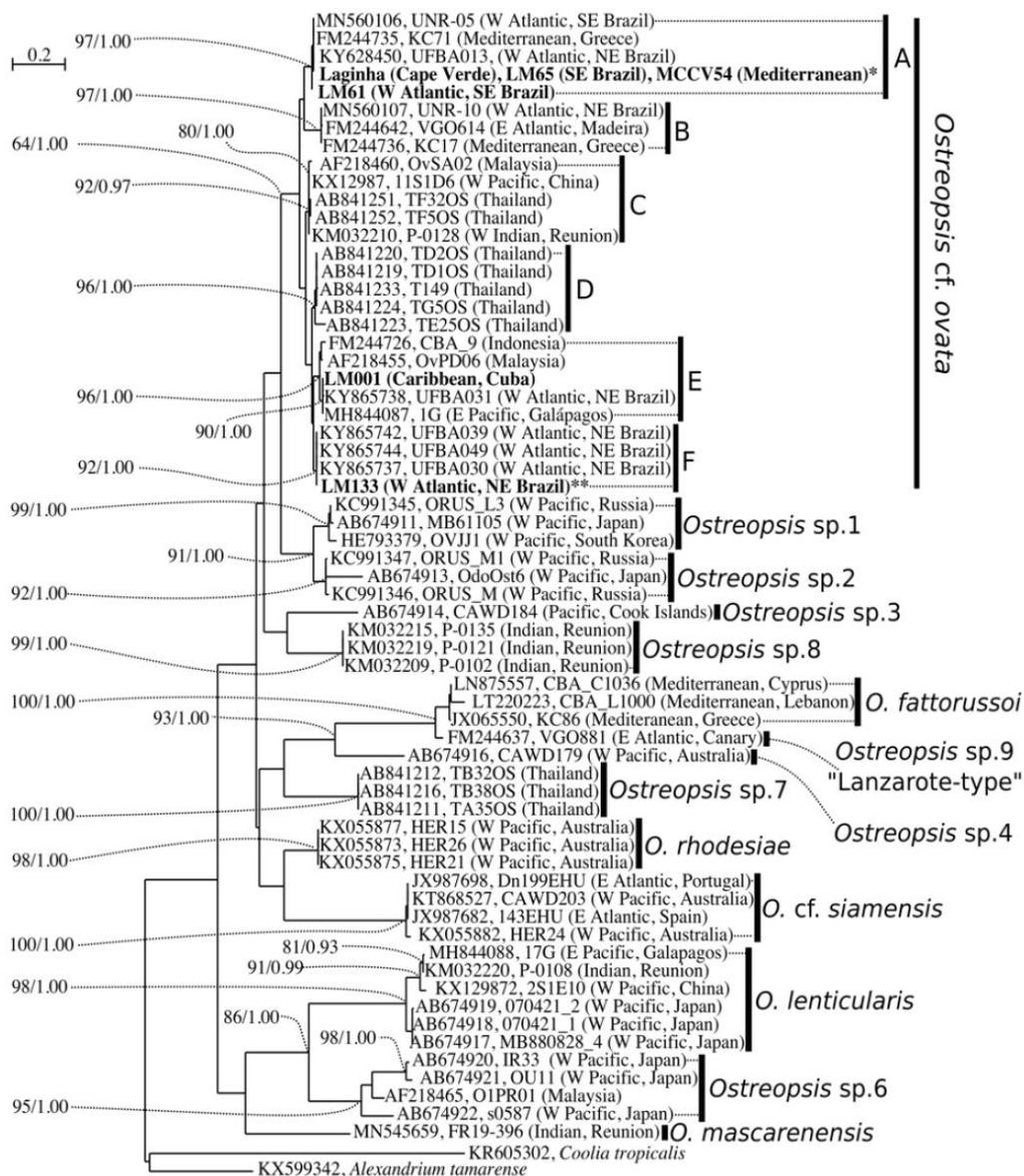
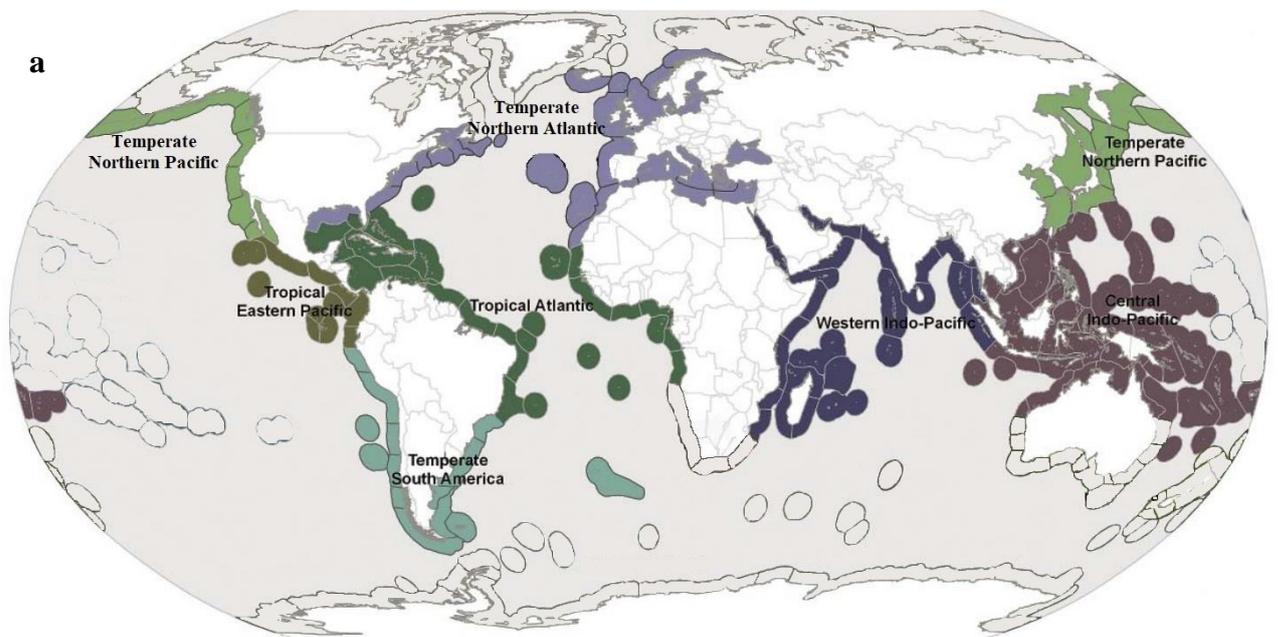


Figura 2. Árvore filogenética baseada em Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI) utilizando sequências ITS 1, 5.8S rDNA e ITS 2 de *Ostreopsis* spp. Os números nos ramos representam os valores de probabilidade posterior (PP) e “bootstrap” (BS). Retirado de TIBIRIÇÁ, (2020).

De acordo com a classificação definida em Spalding *et al.* (2007) (Figura 3), as cepas de *O. cf. ovata* estão dispostas em sete reinos biogeográficos: América do Sul Temperado (*Temperate South America*), Atlântico Norte Temperado (*Temperate Northern Atlantic*), Atlântico Tropical (*Tropical Atlantic*), Indo-Pacífico Central (*Central Indo-Pacific*), Indo-Pacífico Ocidental (*Western Indo-Pacific*), Pacífico Norte Temperado (*Temperate Northern Pacific*) e Pacífico Oriental Tropical (*Tropical Eastern Pacific*) (Figura 3a), e estas cepas estão arranjadas em 13 províncias. Sendo uma província do Reino América do Sul Temperado, duas províncias do Reino Atlântico Norte Temperado, duas províncias do Reino do Atlântico Tropical, quatro províncias do Reino Indo-Pacífico Central, uma província do Reino Indo-Pacífico Ocidental, duas províncias do Reino Pacífico Norte Temperado e uma província do Reino Oriental Tropical (Figura 3b) (Tabela S1) (SPALDING *et al.*, 2007). Percebemos assim, a ampla distribuição de *O. cf. ovata* e deduzimos a sua capacidade de dispersão.



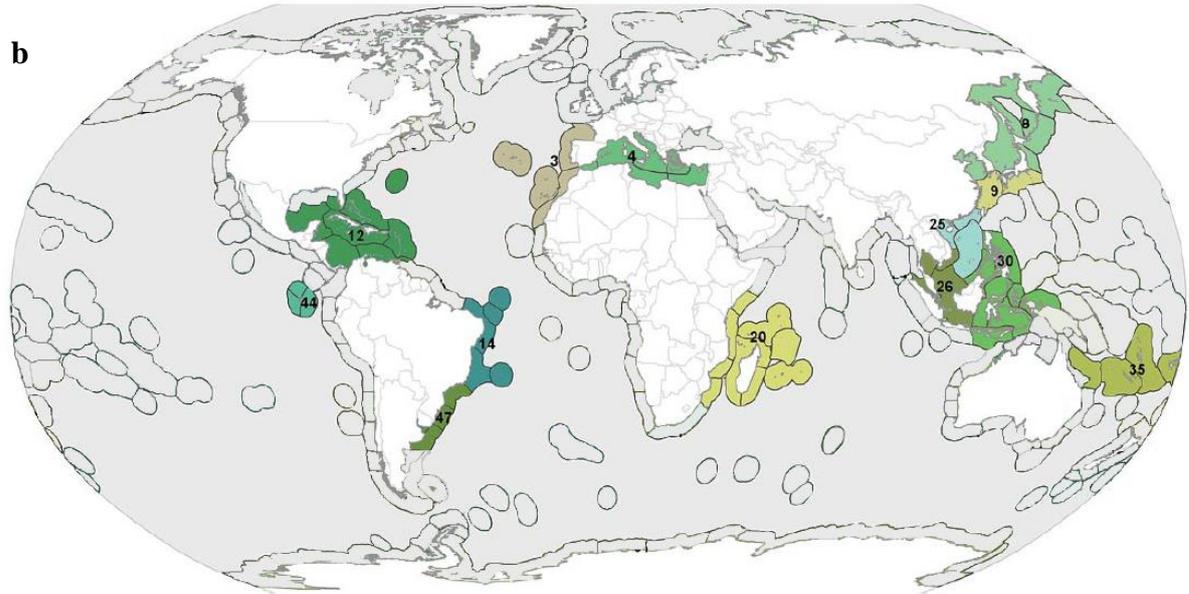


Figura 3. a. Reinos biogeográficos de ocorrência de *Ostreopsis cf. ovata* ressaltadas em cores e com seus limites delineados; **b.** Províncias delimitadas e identificadas por números descritas na Tabela S2 (imagens adaptadas de Spalding *et al.*, 2007).

2. HIPÓTESE:

Ostreopsis cf. ovata apresenta estrutura filogeográfica, com linhagens divergentes apresentando distribuição alopátrica.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O presente estudo propõe realizar uma análise filogeográfica de *O. cf. ovata*, contribuindo para uma melhor compreensão da distribuição geográfica contemporânea da espécie e, por consequência, das suas florações.

3.2. Objetivos específicos

- Através de reconstruções filogenéticas, verificar a qual das seis linhagens (subclados) principais de *O. cf. ovata* as sequências de rDNA descritas na literatura pertencem.
- Inferir a história filogeográfica de *O. cf. ovata* comparando-se sequências de rDNA de cepas brasileiras e de outras localidades do mundo disponíveis no GenBank.
- Discutir os padrões filogeográficos revelados no presente estudo, buscando contribuir para uma melhor compreensão da distribuição geográfica contemporânea da espécie.
- Discutir, com base na literatura, os mecanismos de dispersão que expliquem o padrão apresentado no estudo.

4. METODOLOGIA

4.1. Construção do banco de dados

Tendo em vista a similaridade morfológica entre algumas espécies de *Ostreopsis* e a impossibilidade de distingui-las com base na morfologia, o banco de dados construído foi elaborado a partir de sequências de cepas (amostras) de *O. cf. ovata* do mundo todo depositadas no Genbank. Isto foi importante para certificar através das análises filogenéticas que todas as amostras utilizadas realmente são de *O. cf. ovata*.

4.1.2. Seleção e construção do banco de sequências

Inicialmente foram realizadas buscas no Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) por sequências do DNA ribossomal (rDNA) de *O. cf. ovata* utilizando as seguintes palavras chaves: *Ostreopsis*, *Ostreopsis ovata*, *Ostreopsis cf.*

ovata e *Ostreopsis* sp. Foram realizadas buscas por sequências do ITS (*Internal transcribed spacer 1 - 5.8S - Internal transcribed spacer 2*) e por duas regiões (D1D3 e D8D10) da subunidade maior (LSU - *Large-Subunit*) do rDNA. Estes loci foram selecionados pois são os mais comumente utilizados em trabalhos de sistemática e filogenia molecular do gênero *Ostreopsis*. Além disso, também foi utilizada a ferramenta “BLAST” (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para buscar por possíveis sequências não identificadas anteriormente. As sequências encontradas foram armazenadas no formato “FASTA” e utilizadas nas etapas seguintes do estudo.

4.1.3. Elaboração do banco de dados sobre as cepas

Partindo das sequências de *O. cf. ovata* obtidas do Genbank, foi elaborada uma planilha (TABELA S3, material Suplementar) com a listagem das cepas (amostras) encontradas. Nesta planilha foram incluídas informações como: código da cepa, marcador genético utilizado (ITS, LSU-D1D3 ou LSU-D8D10), código de acesso do GenBank, localidade de origem da cepa e suas coordenadas geográficas. Além disso, foi inserida uma coluna com informações sobre a região de ocorrência e a província de cada cepa de *O. cf. ovata*, definidas conforme a classificação biogeográfica para as áreas costeiras proposta por Spalding *et al.* (2007) (Tabela S1). Por último, foi adicionada uma coluna para atribuição dos subclados de cada cepa de *O. cf. ovata* após as análises filogenéticas, de acordo com os subclados apresentados em Nascimento *et al.* (2020). A definição da temperatura máxima de longo prazo na profundidade média da superfície do mar e os valores de salinidade da água do mar pela Escala Prática de Salinidade (EPS ou PSS – *Practical Salinity Scale*) foram obtidos no portal Bio-Oracle (<https://www.bio-oracle.org/>) de acordo com Assis *et al.* (2017) e Tyberghein *et al.* (2012).

4.2. Reconstruções filogenéticas

As análises foram realizadas de forma independente para cada um dos três *loci* do rDNA (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10). As sequências analisadas foram alinhadas utilizando-se o MAFFT v 7 (KATO *et al.*, 2019) mantendo as configurações usuais do programa. Os sítios mal alinhados e as regiões divergentes foram descartadas pelo software GBLOCKS v0.91b

(CASTRESANA, 2000). O *software* MEGA X (KUMAR *et al.*, 2018) foi usado para selecionar o melhor modelo de substituição de nucleotídeos e para construir as árvores filogenéticas de Máxima Verossimilhança (ML) com 1000 replicações de “*bootstrap*”. Nas Inferências Bayesianas (IB) não foi escolhido um modelo evolutivo *a priori* e foi utilizado número de gerações = 1000000 no programa *MrBayes* v 3.2. (RONQUIST *et al.*, 2012). O desvio padrão da média da frequência das bifurcações de valores de aproximadamente 0,01 foram obtidos e após sumarizar os resultados, foram eliminados 25% das amostras para gerar árvores consenso.

4.3. Análises filogeográficas

As análises filogeográficas foram realizadas para cada um dos três *loci* independentemente (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10). Apenas as sequências identificadas como *O. cf. ovata* foram utilizadas nas reconstruções filogenéticas. As sequências foram alinhadas no *MAFFT* v 7 (KATOHI *et al.*, 2019) e tratadas pelo *software* *GBLOCKS* v 0.91 para retirar regiões divergentes ou ambíguas do alinhamento (CASTRESANA, 2000). Os alinhamentos para cada um dos três marcadores foram realizados no *software* *DnaSP* para definir os haplótipos (LIBRADO & ROZAS, 2009). Os “*gaps*” foram desconsiderados. Os arquivos gerados pelo *software* *DnaSP* (*Rohel data file* – “.rdf”) foram carregados no *software* *NETWORK* 10.2.0.0 (BANDELT *et al.*, 1999) para gerar as redes de haplótipos pelo método de “*Median Joining*”.

Após a construção das redes de haplótipos, os dados gerados no *DNAsp* foram analisados conjuntamente aos subclados encontrados nas árvores e adicionados a planilha do “*Microsoft Excel*”. Os haplótipos foram adicionados a planilha do “*Microsoft Excel*”, dispostos em colunas e as localidades em linhas. A frequência relativa dos haplótipos por localidade foi calculada e os valores encontrados foram plotados em gráficos circulares (tipo “*pizza*”). Os haplótipos foram diferenciados com as variações dos tons das cores adicionadas aos subclados nas árvores filogenéticas. Os gráficos foram plotados em um Mapa-múndi.

4.4. Divulgação científica

Esta etapa é obrigatória do PPGBIO, e foi realizada em três etapas, sendo a primeira iniciativa realizada como atividade final da disciplina optativa de Divulgação Científica. Culminando na produção de um texto e um áudio com a explicação do projeto publicado no portal do PPGBIO-UNIRIO (www.unirio.br/ccbs/ibio/ppgbio), intitulado “Microalga tóxica na costa brasileira e as mudanças climáticas”. Na segunda etapa, foi criado o perfil no *Youtube: Ostreopsis ovata* e foram indexados 10 vídeos. Estes são slides animados gerados no *Powtoon* (<https://www.powtoon.com/>), com as temáticas centrais da dissertação. Por fim, na última etapa, foram realizadas duas postagens no *Instagram* do Laboratório de Microalgas Marinhas – MIMAR (UNIRIO) sobre a distribuição geografia de *Ostreopsis* e suas florações, e o recorte de distribuição geográfica e as florações registradas no Oceano Atlântico.

5. RESULTADOS

5.1. Banco de dados

Considerando os três marcadores (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10), inicialmente foram obtidas 529 sequências de *O. cf. ovata*. Sendo ITS = 235 sequências, D1D3 = 162 sequências e D8D10 = 132 sequências. Após a triagem (exclusão de sequências curtas e de baixa qualidade), permaneceram 389 sequências de *O. cf. ovata*, ficando ITS = 185 sequências, D1D3 = 111 sequências e D8D10 = 93 sequências. No total foram identificadas 251 cepas (sequências) (TABELA S2) distribuídas em 126 pontos de coleta (Figura 4). A análise dos dados relacionados ao local de coleta destas cepas confirmou que *O. cf. ovata* ocorre majoritariamente na zona tropical, sendo presente também em parte da zona temperada (Figura 4).

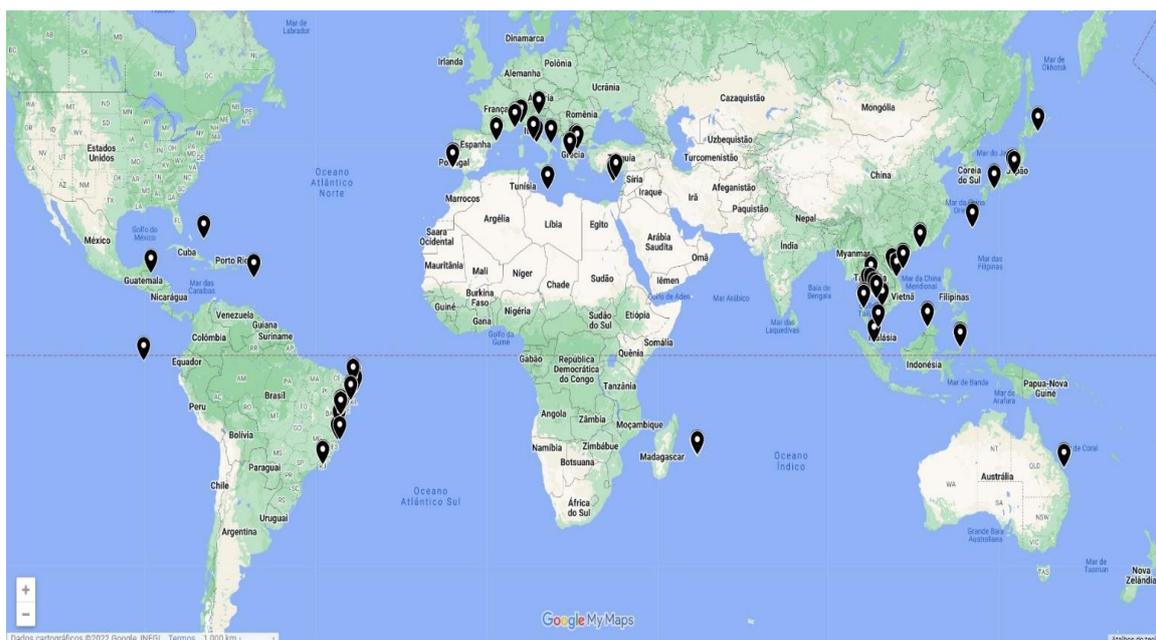


Figura 4. Locais de origem das seqüências do rDNA de *O. cf. ovata* disponíveis no Genbank.

TABELA 1. Número de cepas e seqüência em cada província de ocorrência de *O. cf. ovata*.

Províncias	Cepas	Seqüências
Mar Mediterrâneo	65	102
Atlântico Sudoeste Tropical	51	56
Plataforma Continental Sunda	43	55
Mar da China Meridional	26	39
Lusitaniana	20	36
Pacífico Noroeste Temperado Quente	19	28
Atlântico Sudoeste Temperado Quente	10	14
Triângulo Ocidental de Coral	7	12
Atlântico Noroeste Tropical	3	8
Oceano Índico Ocidental	3	5
Noroeste do Pacífico Frio Temperado	2	2
Sudoeste Pacífico Tropical	1	3
Galápagos	1	2

5.2. Reconstruções filogenéticas

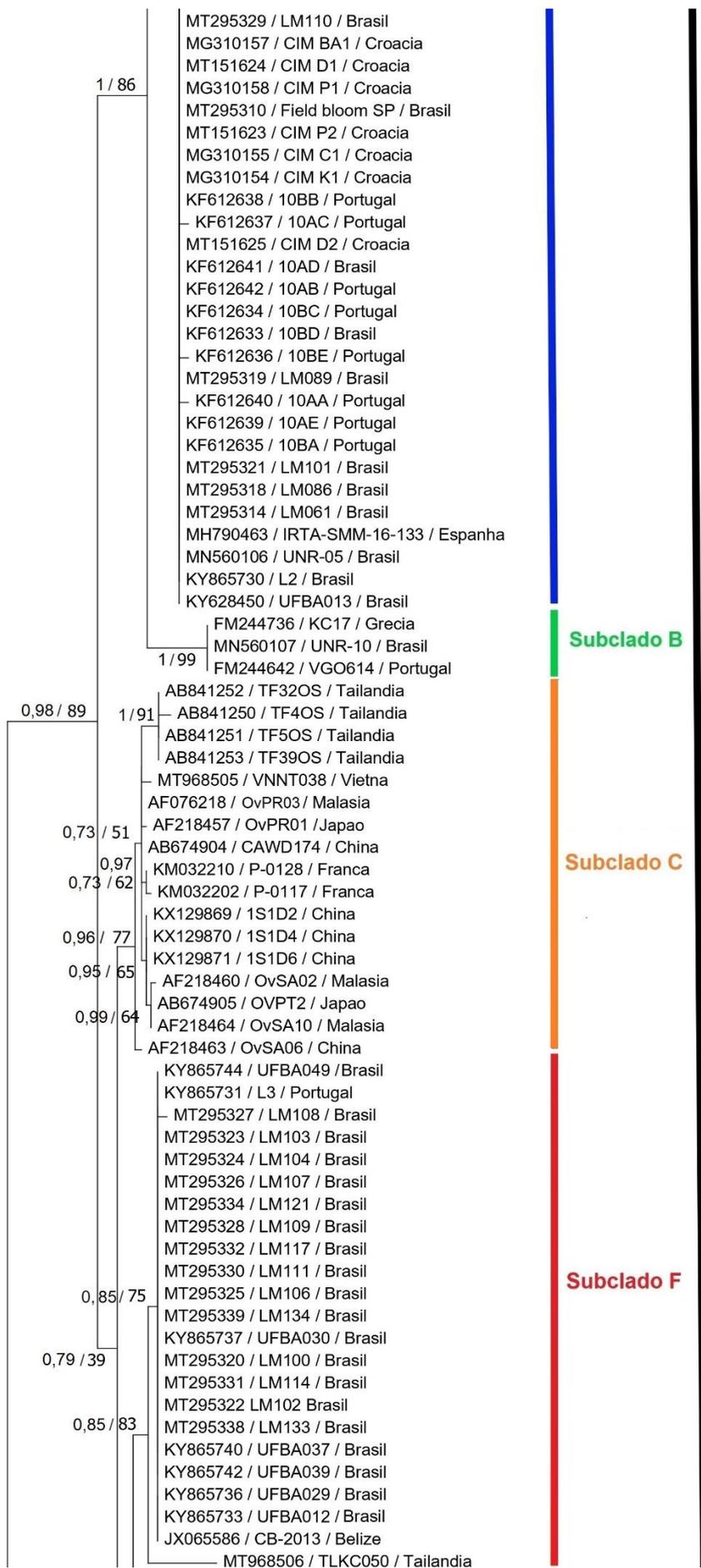
O número de sequências utilizadas na construção dos alinhamentos para a criação das árvores filogenéticas foram: ITS = 185, LSU-D1D3 = 111 e LSU-D8D10 = 93. Os alinhamentos apresentaram os respectivos tamanhos: ITS = 324 sítios, D1D3 = 503 sítios e D8D10 = 594 sítios.

As reconstruções filogenéticas realizadas para os três *loci* analisados (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10) produziram árvores com topologias similares e resultaram na recuperação dos seis subclados de *O. cf. ovata* usualmente descritos na literatura (Figura 5, 6 e 7), em ITS e LSU-D1D3. E em D8D10 os cinco subclados A, B, C, D e F, conforme elencando na literatura (NASCIMENTO *et al.*, 2020; TIBIRIÇÁ, 2020).

As reconstruções filogenéticas realizadas com base nas sequências ITS (Figura 4) revelaram os subclados: A, composto por 96 sequências coletadas do Oceano Atlântico e Oceano Pacífico. B, agrupou três sequências coletadas do Oceano Atlântico. C, formado por 17 sequências do Oceano Atlântico, Oceano Índico e Oceano Pacífico. D, composto por 38 sequências do Oceano Pacífico. E, composto por oito sequências dos Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico. O subclado F agrupou 23 sequências do Oceano Atlântico e Oceano Pacífico.

MN560108 / UNR-60 / Brasil
 MN560105 / UNR-03 / Brasil
 KY865735 / UFBA013F / Portugal
 FM244735 / KC71 / Grecia
 FM244732 / KC68 / Grecia
 FM244627 / Geo-2 / Grecia
 FM244734 / KC70 / Grecia
 HG972965 / VGO964 / Espanha
 JX065551 / VGO1001 / Espanha
 JX065553 / CBA1502 / Italia
 FM244733 / KC69 / Grecia
 FM244631 / CBA-N / Italia
 JX065554 / CBA1597 / Italia
 FM244633 / CBA-T / Espanha
 MG551865 / IRTA-SMM-15-13 / Espanha
 MT274660 / IRTA-SMM-15-11 / Espanha
 FM242107 / KC39 / Grecia
 FM244632 / CBA-P / Italia
 KJ781416 / Oso.2 / Tunisia
 FM244635 / VGO822 / Espanha
 FM244668 / OS-13BR / Brasil
 KJ781415 / Oso.1 / Tunisia
 MK615654 / SKLMP W094 / Hong Kong
 MK615638 / SKLMP S024 / Hong Kong
 MK615652 / SKLMP W047 / Hong Kong
 0,77 / 66 MK615655 / SKLMP W095 / Hong Kong
 MK615648 / SKLMP Ve082 / Hong Kong
 MK615649 / SKLMP Ve108 / Hong Kong
 0,77 / 64 MK615636 / SKLMP S009 / Hong Kong
 MK615644 / SKLMP S092 / Hong Kong
 MK615653 / SKLMP W092 / Hong Kong
 MK615640 / SKLMP S054 / Hong Kong
 0,77 / 63 MK615650 / SKLMP W021 / Hong Kong
 MK615639 / SKLMP S053 / Hong Kong
 FM244671 / OS-20BR / Brasil
 KM032223 / IRTA-SMM-11-09 / Espanha
 FM244669 / OS-16BR / Brasil
 FM244666 / OS-07BR / Brasil
 FM244664 / OS-04BR / Brasil
 AB674906 / KAC85 / Italia
 FM244629 / ARPA-Lazio / Italia
 FM244622 / CBA-C / Italia
 FM244638 / VGO883 / Espanha
 JN790686 / 261009aB2 / Espanha
 AJ311520 / A1 / Italia
 JN790687 / 261009aA3 / Espanha
 AB674902 / T60730 1 / Japao
 1 / 98 FM244634 / VGO-820 / Espanha
 AB674903 / T70828 2 / Espanha
 JN790688 / 261009aA1 / Espanha
 JF682767 / LCA-E7 / Brasil
 MT270691 / MCCV054 / Franca
 AB674907 / S70830 4 / Japao
 MT270692 / MCCV055 / Franca
 JX987685 / Dn146EHU / Portugal
 KX781270 / 18S / Brasil
 JX987686 / Dn147EHU / Portugal
 JX987684 / Dn145EHU / Brasil
 JX987687 / 148EHU / Portugal
 KJ439619 / IFR-OSTO1MO / Monaco
 MT295337 / LM130 / Brasil
 MT295317 / LM065 / Brasil
 MT295336 / LM129 / Brasil
 MT295312 / Field bloom PR / Brasil
 MT295315 / LM062 / Brasil
 MT295311 / Field bloom BA / Brasil
 MT295316 / LM063 / Brasil
 MT295335 / LM128 / Brasil
 MT295333 / LM120 / Brasil

Subclado A



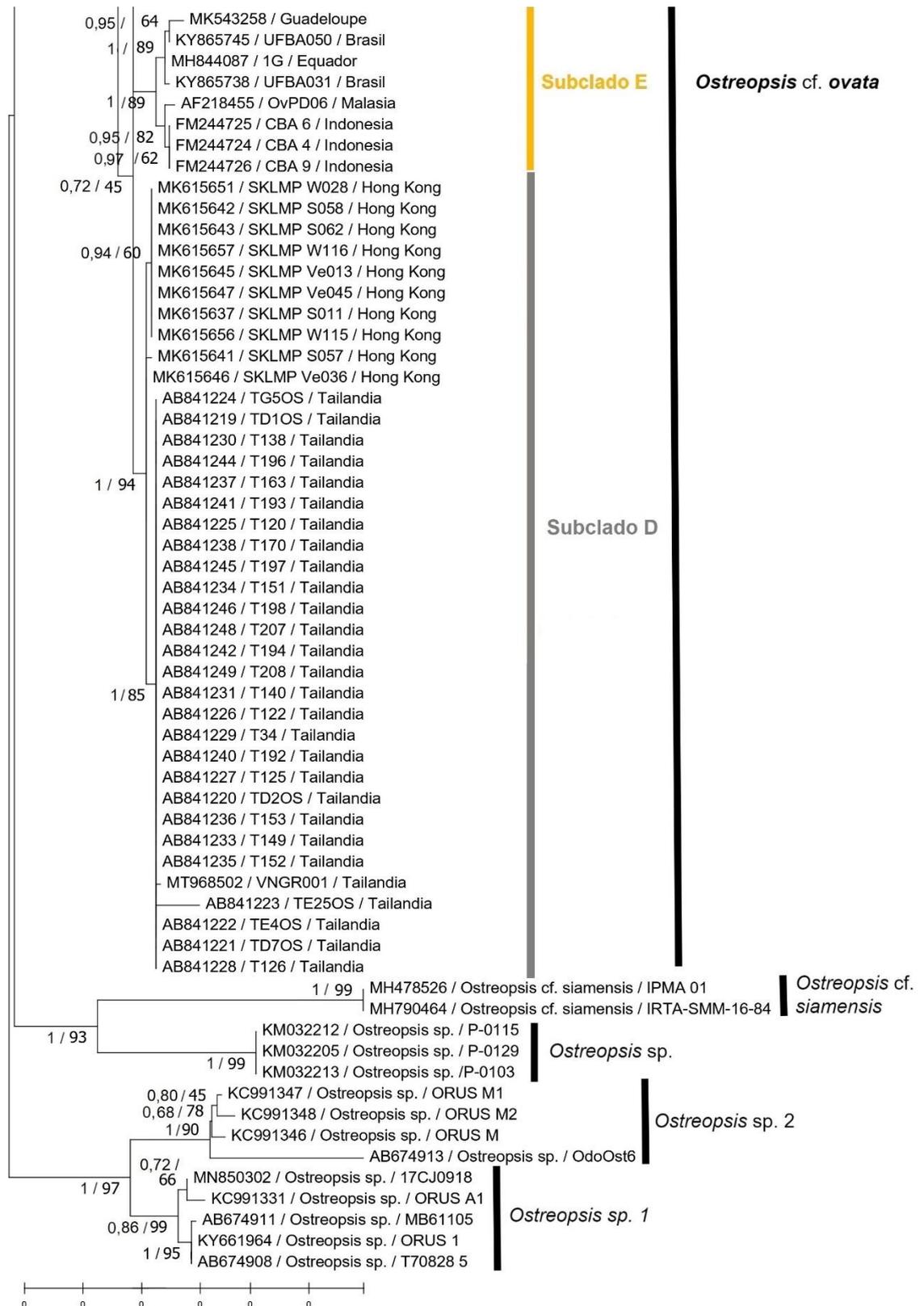


Figura 5. Árvore filogenética baseada em Máxima Verossimilhança (ML) utilizando seqüências ITS de cepas de *Ostreopsis*. Os números nos ramos representam os valores de “bootstrap” (BS) e probabilidade posterior (PP) (*cut-off* = 50%).

As reconstruções filogenéticas realizadas com base nas sequências de LSU-D1D3 (Figura 5) apresentaram os subclados: A, com 88 sequências dos Oceanos Atlântico e Pacífico. B, formado por três sequências composta por cepas isoladas do Oceano Atlântico. C, composto por cinco sequências do Oceano Atlântico e Pacífico. D, que agrupou três sequências do Oceano Pacífico. E, formado por quatro sequências do Oceano Pacífico. E, o F agrupa oito sequências do Oceano Atlântico.

MN560113 / UNR-05 / Brasil
 KJ781419 / Oso.2 / Tunisia
 KX845008 / OOBZT14 / Tunisia
 KP970813 / MGP-2015 VGO1188 / Espanha
 KX781270 / 18S / Brasil
 KJ439619 / IFR-OSTO1MO / Monaco
 KJ781420 / Oso.3 / Tunisia
 KJ781418 / Oso.1 / Tunisia
 GQ380659 / OOAN0601 / Italia
 MT295310 / Field bloom SP / Brasil
 JX065562 / CBA1502 / Italia
 KP970816 / MGP-2015 VGO1192 / Espanha
 AB605818 / IshiOst61 / Japao
 0,50 / 44 KP970820 / MGP-2015 VGO1001 / Espanha
 FM994930 / VGO883 / Espanha
 0,98 / 50 KY865734 / UFBA013 / Brasil
 FM946080 / CBA-G / Italia
 JX065567 / VGO960 / Espanha
 JX065564 / CBA1823 / Italia
 JX065566 / VGO964 / Espanha
 FM946077 / CBA-D / Italia
 FM946079 / CBA-F / Italia
 FM946078 / CBA-E / Italia
 FM946088 / Geo / Italia
 FM946096 / KC68 / Grecia
 MT151622 / CIM P1 / Italia
 FM994892 / VGO820 / Espanha
 MG310154 / CIM K1 / Croacia
 MG310157 / CIM BA1 / Croacia
 MT151623 / CIM P2 / Italia
 MG310155 / CIM C1 / Croacia
 MG310155 / CIM C1 Croacia
 MG310153 / CIM V1 / Croacia
 MG310156 / CIM BO1 / Croacia
 MG310158 / CIM P1 / Croacia
 JX065568 / OOAB0801 / Italia
 MT151625 / CIM D2 / Croacia
 FM946084 / CBA-M / Italia
 FM946097 / KC69 / Grecia
 FM994932 / VGO887 / Espanha
 0,72 / 47 FM946091 / CNR-Z1 / Espanha
 FM994931 / VGO884 / Espanha
 0,99 / 47 FM946083 / CBA-L / Italia
 FM946099 / KC71 / Grecia
 FM946098 / KC70 / Grecia
 FM946090 / CNR-D1 / Italia
 FM946082 / CBA-A / Italia
 FM946095 / KC39 / Grecia
 KP970815 / VGO1193 / Espanha
 FM946076 / CBA-C / Italia
 FM997920 / OS-19BR / Brasil
 FM946094 / KC38 / Grecia
 FM994899 / OS-05BR / Brasil
 FM946093 / KC36 / Grecia
 FM946092 / KC34 / Grecia
 FM946085 / CBA-N / Italia
 FM997914 / OS-10BR / Brasil
 FM997917 / OS-16BR / Brasil
 FN256432 / OS-12BR / Brasil
 FM946086 / CBA-P / Italia
 FM997918 / OS-18BR / Brasil
 FM946089 / Geo2 / Italia
 FM946081 / CBA-H / Italia
 FM997916 / OS-15BR / Brasil

Subclado A

Ostreopsis cf. ovata

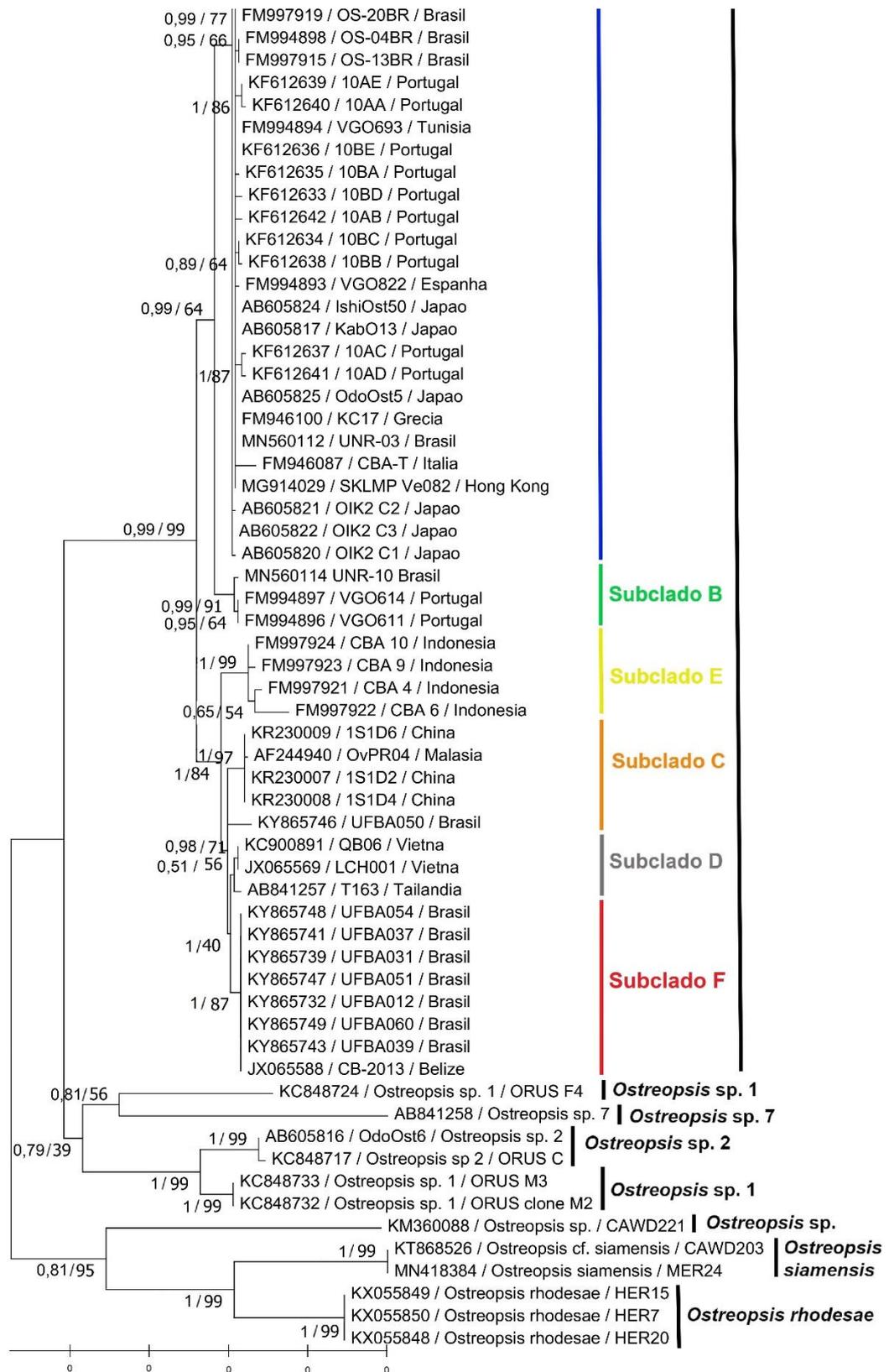
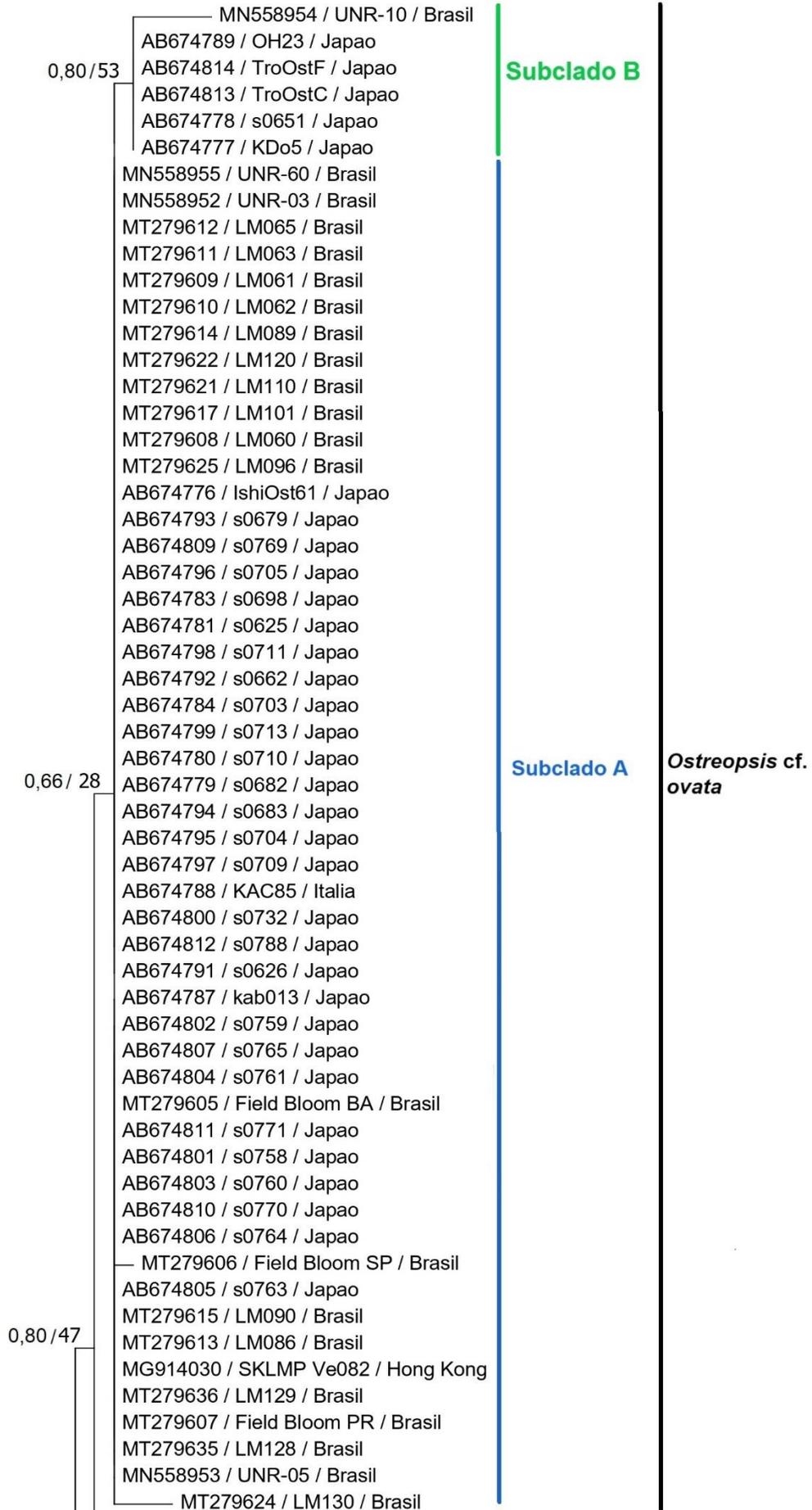


Figura 6. Árvore filogenética baseada em Máxima Verossimilhança (ML) utilizando seqüências LSU-D1D3 de cepas de *Ostreopsis*. Os números nos ramos representam os valores de “bootstrap” (BS) e probabilidade posterior (PP) (*cut-off* = 50%).

As reconstruções filogenéticas realizadas com base nas sequências LSU-D8D10 (Figura 6) revelaram os subclados: A, composto por 51 sequências e formado por cepas oriundas dos oceanos Atlântico e Pacífico. B, com seis sequências oriundas do Oceano Atlântico e Pacífico. C, composto por oito sequências amostradas do Oceano Atlântico e Pacífico. D, foi formado por 15 sequências do Oceano Pacífico. Não houveram cepas agrupadas ao subclado E neste marcador, o mesmo decorre em Nascimento *et al.*, 2020. E o subclado F é formado por 13 sequências advindas dos Oceanos Atlântico e Pacífico.



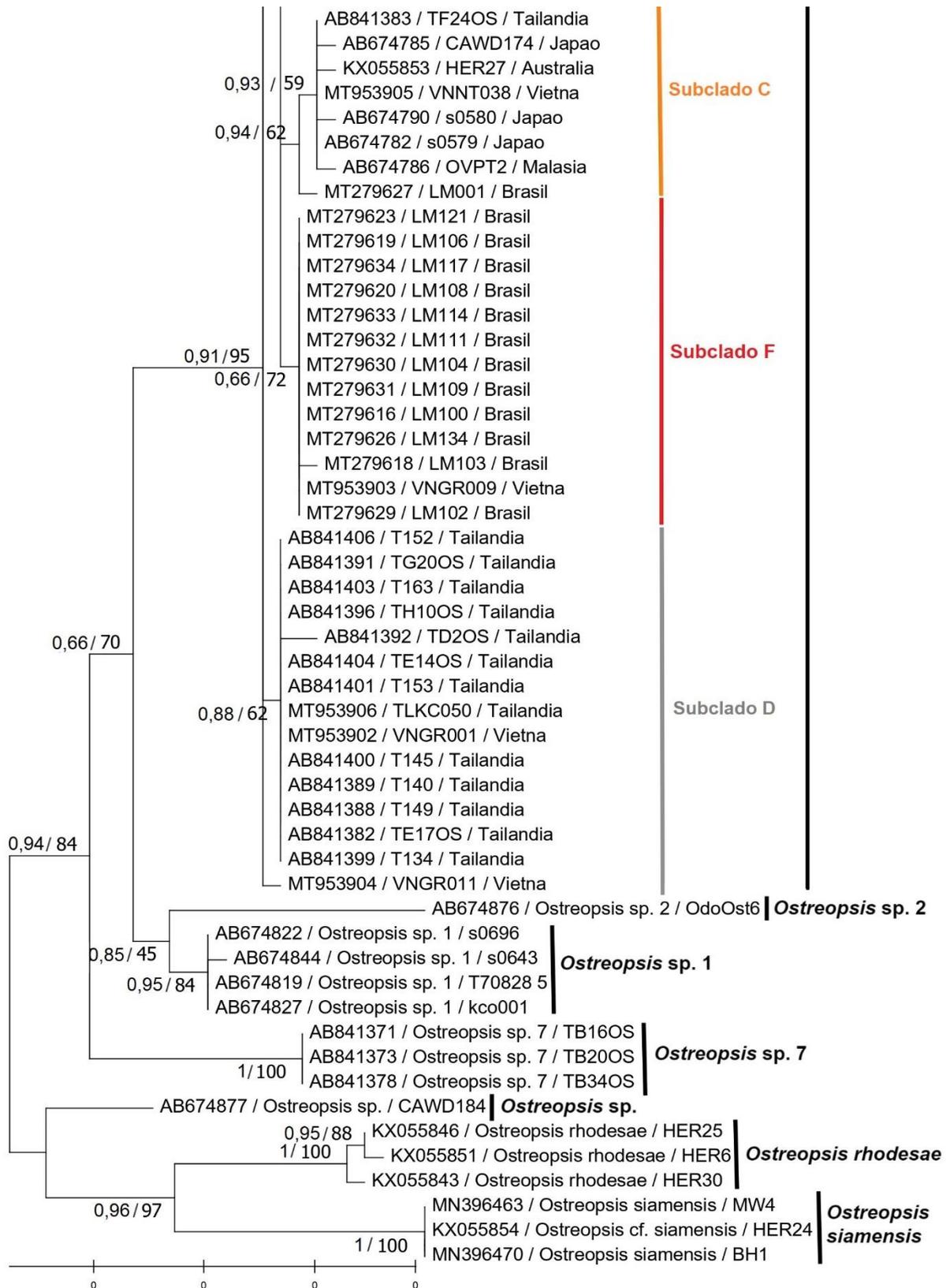


Figura 7. Árvore filogenética baseada em Máxima Verossimilhança (ML) utilizando seqüências LSU-D8D10 de cepas de *Ostreopsis*. Os números nos ramos representam os valores de “bootstrap” (BS) e probabilidade posterior (PP) (“cut-off” = 50%).

5.3. Análises filogeográficas

Na construção da rede de haplótipos foram analisadas 181 sequências de *O. cf. ovata* do *locos* ITS, sendo identificados 25 haplótipos (H1-H25) (Figura 7): subclado A com oito haplótipos (H1-H8). O haplótipo mais frequente foi o H1, com 77 sequências. Este haplótipo está amplamente distribuído no Oceano Atlântico e Pacífico. O haplótipo H2, com 12 sequências, ocorre no Mar Mediterrâneo e o Oceano Pacífico. No subclado B foi encontrado apenas um haplótipo (H9), com três sequências do Oceano Atlântico. No subclado C, foi encontrado seis haplótipos (H10-H15), sendo o H11 o haplótipo mais frequente. H11 está presente no Oceano Índico e Pacífico. No subclado D foram encontrados quatro haplótipos (H17-H20). O H17 é mais frequente, agrupando 25 sequências do Oceano Pacífico (Tailândia e Malásia). No subclado E, foram encontrados cinco haplótipos (H21-H25) amplamente distribuído nos três Oceanos, o haplótipo mais frequente é o H24, que abriga três sequências da Indonésia. O subclado F foi encontrado apenas um haplótipo, o H16, que é formado por 22 sequências e ocorre apenas no Oceano Atlântico (Figura 9).

Tomando como base os reinos marinhos propostos por Spalding *et al.* (2007), o subclado A, composto pelos haplótipos H1-H8, inclui cepas dos reinos do Atlântico Tropical, Atlântico Norte Temperado, América do Sul Temperado e Indo-Pacífico Central. O subclado B (H9) inclui cepas dos reinos Atlântico Tropical e Norte Temperado. O subclado C (H10-H15) foi formado por cepas originárias dos reinos Indo-Pacífico Central, Pacífico Norte Temperado e Indo-Pacífico Ocidental. O subclado D (H17-H20) inclui cepas do reino Indo-Pacífico Central. O subclado E (H21-H25) é composto por cepas dos reinos do Atlântico Tropical, Atlântico Norte Temperado, Pacífico Oriental Tropical, Indo-Pacífico Central e Pacífico Norte Temperado. O subclado F foi formado por cepas dos reinos do Atlântico Tropical e Atlântico Norte Temperado (Figuras 8 e 9).

A diversidade haplotípica no Mapa-múndi com base no marcador ITS (Figura 9) evidencia o cosmopolitismo do subclado A (em azul). Os subclados B (em verde) e D (em cinza), em contrapartida, são mais restritos. O subclado B ocorre apenas no Oceano Atlântico e o subclado D no Pacífico. O subclado C (em laranja) ocorre na região do Oceano Índico e Oceano Pacífico, co-ocorrendo com o subclado A (H2, H19 e H20; H4 e H10) e D (H11 e H18). O subclado E (em amarelo) está presente no Oceano Atlântico no Caribe (H22), no Brasil (H21 junto com H1), no Oceano Índico (H25) e no Pacífico (H24). O subclado F (em vermelho) está presente apenas no Oceano Atlântico, e tem dois haplótipos que co-ocorrem com o subclado A (H1 e H6) no nordeste brasileiro.

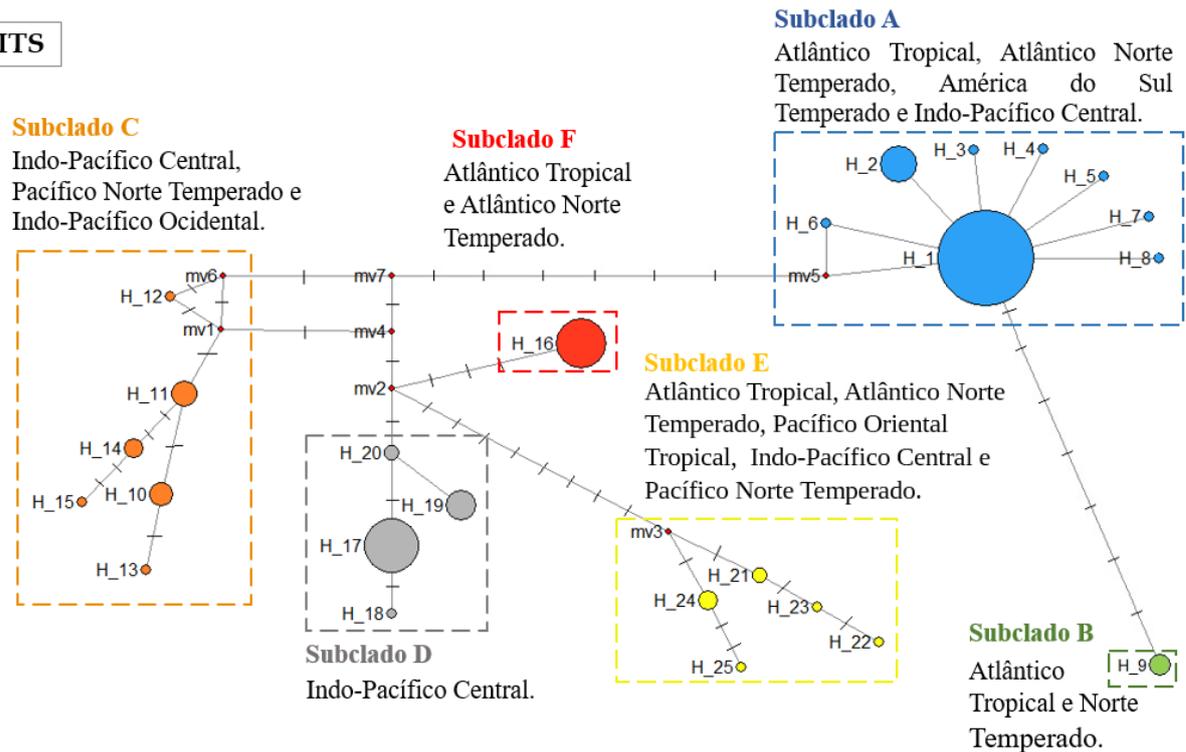


Figura 8. Rede de haplótipos baseada em sequências ITS de *O. cf. ovata*. Os círculos representam os haplótipos e os vetores médios (*mv*). O tamanho dos círculos é proporcional ao número de sequências. As cores dos círculos e as linhas pontilhadas identificam os cinco subclados de *O. cf. ovata* encontrados nas reconstruções filogenéticas. Os traços nos ramos representam as mutações que separam os haplótipos.

A rede de haplótipos gerada pelas 102 sequências do marcador LSU D1D3 apresentou 33 haplótipos (Figura 9). O subclado A originou 24 haplótipos (H1-H24), logo, quase todos os haplótipos do D1D3 fazem parte deste subclado. O haplótipo mais frequente é o H1, com 63 sequências abundantemente presentes no Mar Mediterrâneo, e só não ocorrendo no Oceano Índico. No subclado B foram encontrados dois haplótipos (H25-H26), ambos são formados por apenas uma sequência. O H25 ocorre no Brasil e o H26 em Portugal. No subclado C foram encontrados dois haplótipos (H27-H28), e o haplótipo mais frequente é o H27, com três sequências das Ilhas Hainan, localizadas no Oceano Pacífico Norte. No subclado D foram encontrados dois haplótipos (H30 e H33), e o haplótipo mais frequente é o H30, com duas sequências de Thua Thien Hue, Vietnã, no Oceano Pacífico. No subclado E foram encontrados dois haplótipos (H31-H32), com uma sequência cada, que são da mesma região da Sulawesi do Norte na Indonésia. E no subclado F foi encontrado um haplótipo (H29), composto por três

sequências do Oceano Atlântico, sendo duas delas da Bahia (Salvador) e uma de Belize (Figura 9).

De acordo com os reinos marinhos (SPALDING *et al.*, 2007), o subclado A (H1-H24) é formado por cepas do Atlântico Tropical, Atlântico Norte Temperado, Atlântico Sul Temperado, Indo-Pacífico Central e Pacífico Norte Temperado. O subclado B (H25-H26), é composto por cepas do Atlântico Tropical e Atlântico Norte Temperado. Os subclados C (H27-H28), D (H30 e H33) e E (H31-H32) são compostos por cepas do Indo-Pacífico Central. O subclado F (H29) é composto por cepas do Atlântico Tropical (Figuras 9 e 10).

Tratando da diversidade haplotípica no Mapa-múndi, com base no marcador D1D3 (Figura 11), o subclado A (em azul) demonstra novamente seu perfil cosmopolita, tendo várias cepas ocorrendo no mar mediterrâneo. O subclado B (em verde) aparece apenas no Oceano Atlântico (haplótipo H25 no Brasil e H26 em Portugal). O subclado C (em laranja), assim como o B (em verde), é mais restrito, estando no Oceano Pacífico (H27 e H28). O mesmo ocorre com o subclado D (em cinza), presente apenas no Oceano Pacífico. O subclado E (em amarelo) apareceu neste marcador também de forma restrita ao Oceano Pacífico na Indonésia. E o subclado F (em vermelho) apareceu novamente apenas no Oceano Atlântico (Figura 10).

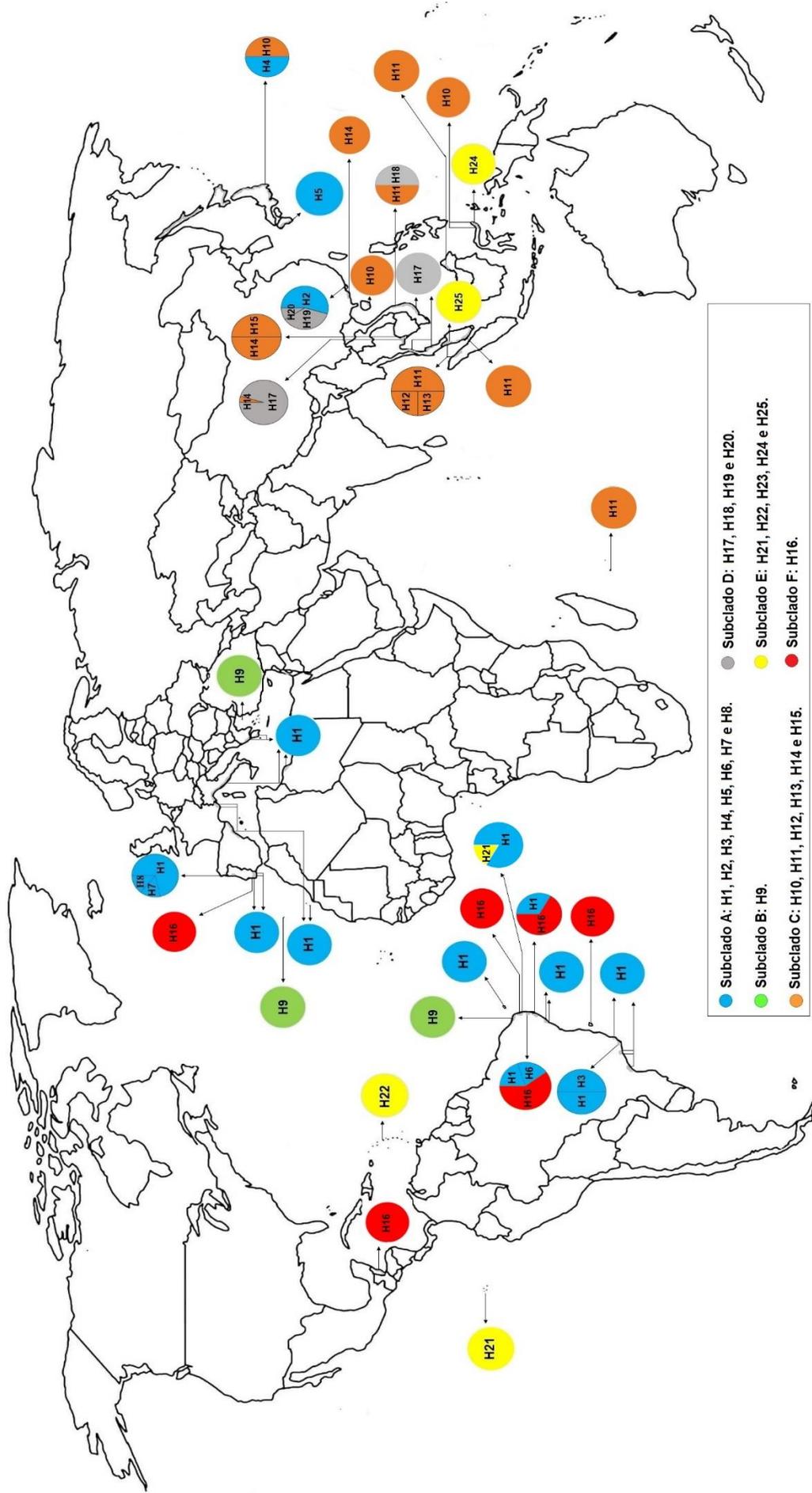


Figura 9. Diversidade haplotípica no Mapa-múndi com base no marcador ITS-rDNA de *O. cf. ovata*. As cores nos gráficos em pizza representam os haplótipos (H) encontrados em cada localidade.

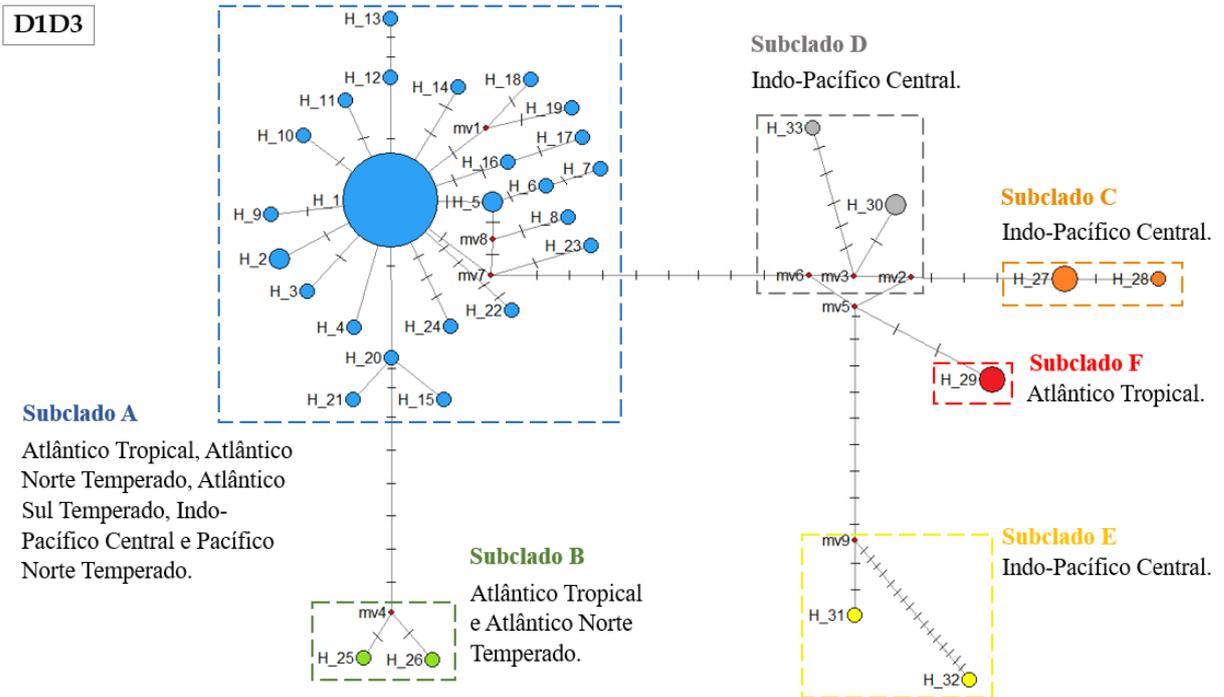
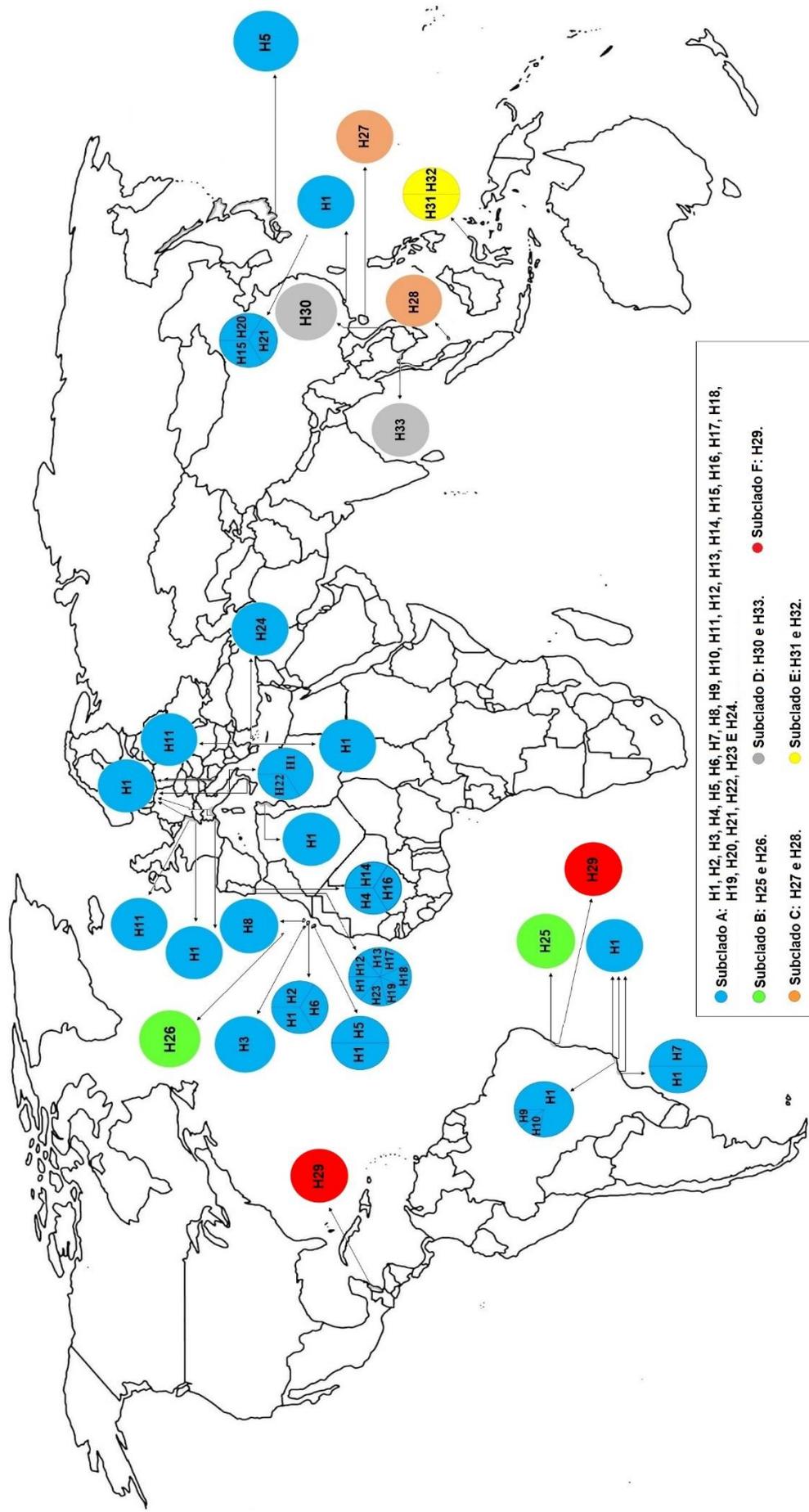


Figura 10. Rede de haplótipos baseada em sequências LSU-D1D3 de *O. cf. ovata*. Os círculos representam os haplótipos e os vetores médios (mv). O tamanho dos círculos é proporcional ao número de sequências. As cores dos círculos e as linhas pontilhadas identificam os cinco subclados de *O. cf. ovata* encontrados nas reconstruções filogenéticas. Os traços nos ramos representam as mutações que separam os haplótipos.



35 **Figura 11.** Diversidade haplotípica no Mapa-múndi com base no marcador LSU-D1D3 de *O. cf. ovata*. As cores nos gráficos em pizza representam os haplótipos (H) encontrados em cada localidade.

A rede de haplótipos do marcador LSU D8D10, que incluiu 64 sequências, apresentou 14 haplótipos (Figura 11). No subclado A foram encontrados três haplótipos (H1, H3 e H12), o haplótipo mais frequente é o H1, com 28 sequências do Oceano Atlântico e Pacífico. No subclado B foram encontrados dois haplótipos (H2 e H9), o haplótipo mais frequente é o H2, com cinco sequências do Japão. No subclado C foram encontrados quatro haplótipos (H6-H8 e H13), sendo o haplótipo mais frequente o H6, com uma sequência da ilha japonesa Koshi, e outra sequência do Vietnã. No subclado D foram encontrados três haplótipos (H5, H10 e H11), sendo o mais frequente o H5, com oito sequências, sendo sete sequências da Tailândia e uma do Vietnã. E no subclado F foram encontrados dois haplótipos (H4 e H14), o haplótipo mais frequente é o H4, com 12 sequências, sendo 11 sequências do Brasil e uma do Vietnã. Não houve cepas referentes ao subclado E neste marcador (Figura 12).

De acordo com os reinos marinhos (SPALDING *et al.*, 2007), as cepas do subclado A (H1, H3 e H12) ocorreram no Atlântico Norte Temperado, Atlântico Tropical, América do Sul Temperado, Indo-Pacífico Central e Pacífico Norte Temperado. As cepas do subclado B (H2 e H9) estão presentes no Atlântico Tropical e Pacífico Norte Temperado. O subclado C (H6-H8 e H13) foi formado por cepas originárias do Atlântico Tropical, Indo-Pacífico Central e Pacífico Norte Temperado. O subclado D (H5, H10 e H11) foi composto por cepas do Indo-Pacífico Ocidental e Indo-Pacífico Central. Já o subclado F (H4 e H14), foi composto por cepas do Atlântico Tropical e Indo-Pacífico Central (Figuras 12 e 13).

De acordo com a diversidade haplotípica no Mapa-múndi do marcador D8D10 (Figura 13), o subclado A (em azul) foi formado por cepas provenientes dos três oceanos, co-ocorrendo com o subclado B no Oceano Pacífico (Japão) e no Oceano Atlântico (Brasil). O subclado C (em laranja) está no Caribe, no Oceano Atlântico (H8). Porém, é mais presente no Oceano Pacífico (H6, H7, H13) co-ocorrendo com o subclado D (em cinza). E o subclado F (em vermelho), no marcador D8D10, diferentemente dos outros, está presente no Oceano Atlântico na costa do Brasil, inclusive co-ocorrendo com o subclado A em Pernambuco (H1 e H4) e em Alagoas (H14) (Figura 13).

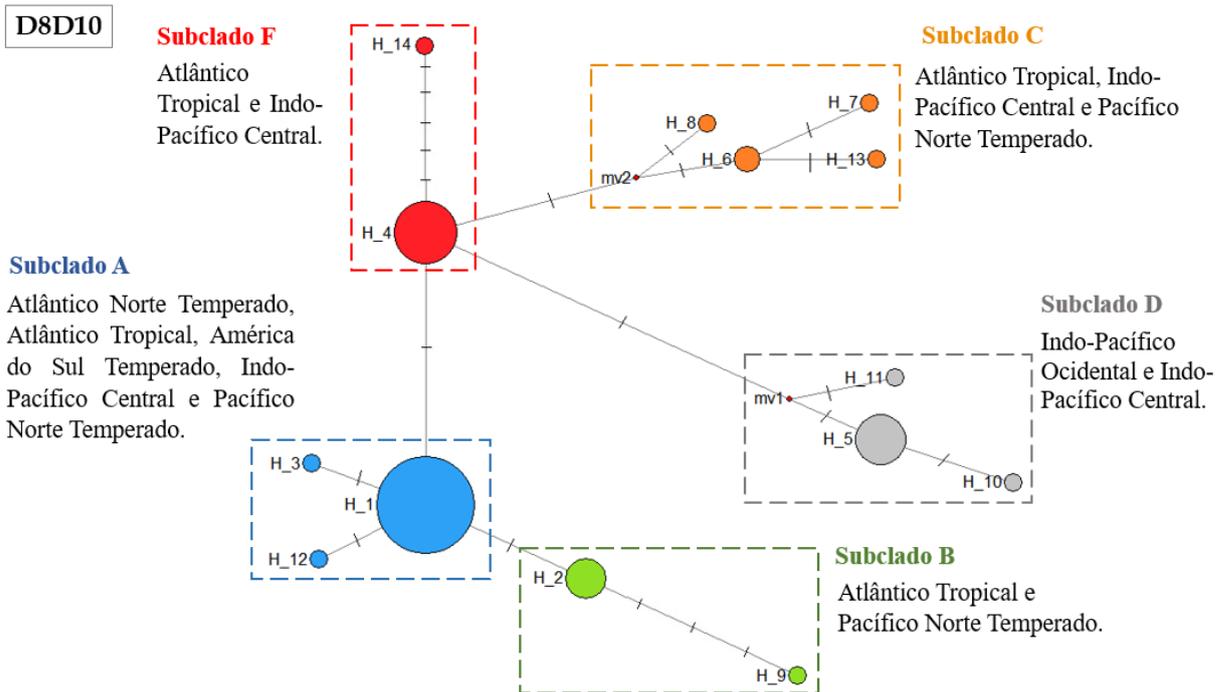


Figura 12. Rede de haplótipos baseada em sequências LSU-D8D10 de *O. cf. ovata*. Os círculos representam os haplótipos e os vetores médios (*mv*). O tamanho dos círculos é proporcional ao número de sequências. As cores dos círculos e as linhas pontilhadas identificam os cinco subclados de *O. cf. ovata* encontrados nas reconstruções filogenéticas. Os traços nos ramos representam as mutações que separam os haplótipos.

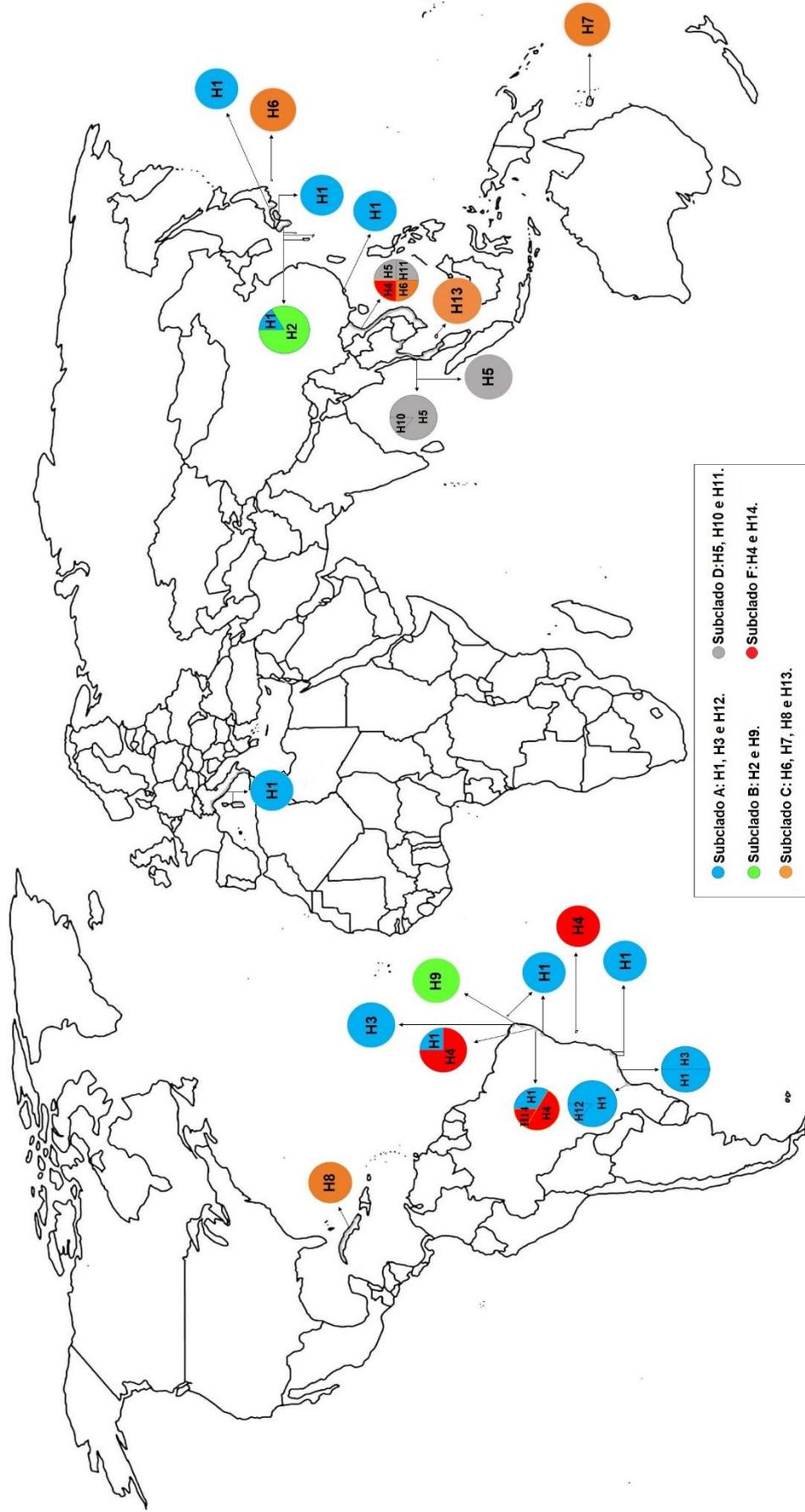


Figura 13. Diversidade haplotípica no Mapa-múndi com base no marcador LSU-D8D10 de *O. cf. ovata*. As cores nos gráficos em pizza representam os haplótipos (H) encontrados em cada localidade.

Referente as províncias situadas nos reinos biogeográficos (Figura 3b) e as cepas de *O. cf. ovata* dos três marcadores (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10) (Figuras 9, 11 e 13), no Oceano Atlântico, a província Atlântico Sudoeste Temperado Quente tem a presença majoritariamente do subclado A (H1, H3 e H7), e do F (H16). A Lusitaniana tem o A (H1, H2, H3, H5, H12, H13, H17, H18, H19 e H23) e o B (H9). Na província Mar Mediterrâneo só ocorre o A (H1, H11, H22 e H24) e B (H9). Na província Atlântico Noroeste Tropical tem a presença do C (H8), E (H22) e F (H16 e H29), e na Atlântico Sudoeste Tropical é composta pelo A (H1, H3, H6), B (H9 e H25), E (H21) e F (H4, H14, H16 e H29).

No Oceano Pacífico (Figura 3b), a província Mar da China Meridional tem a presença do subclado A (H1, H2), C (H6, H10 e H27), predominantemente o D (H5, H11, H19 e H20) e F (H4). Na Plataforma Continental Sunda o C (H5, H10 e H11) e o D (H17, H18 e H30). A província Sudoeste Pacífico Tropical tem apenas o C (H7). Na província Noroeste do Pacífico Frio Temperado ocorre a presença do A (H4) e C (H10). Na província Pacífico Noroeste Temperado Quente ocorre o A (H1, H5, H15, H20 e H21), B (H2) e C (H6). Na província Galápagos ocorre apenas o E (H21). E no Oceano Índico, a província Oceano Índico Ocidental tem apenas o C (H11).

Em resumo, analisando a diversidade haplotípica de *O. cf. ovata* dos três marcadores (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10) (Figuras 9, 11 e 13), a linhagem referente ao subclado A (azul) é realmente cosmopolita. Pois, foram muitas amostras presentes nos três oceanos. A linhagem referente ao subclado B (verde) parece ocorrer majoritariamente no Atlântico, com uma exceção no Pacífico (H2). Porém, para este subclado B até o momento existem pouquíssimas sequências de todo o mundo, o que pode ocultar o padrão. A linhagem referente ao subclado C (laranja) é praticamente exclusiva da região do Indo-Pacífico, com uma única exceção perto de Cuba para o D8D10 (H8). A linhagem referente ao subclado D (cinza) parece ser a única com distribuição realmente restrita, exclusiva do Pacífico. A linhagem referente ao subclado F (vermelho) é praticamente exclusiva do Atlântico, com uma única exceção próximo ao Japão para o D8D10 (H4). A linhagem referente ao subclado E (amarelo) também parece ser cosmopolita. Entretanto, também é um clado representado por poucas sequências. É interessante observar que numa mesma região co-ocorrem diferentes linhagens que parecem não se misturar, o que pode evidenciar uma especiação.

5. DISCUSSÃO

Atopologia das árvores filogenéticas obtidas para os três *loci* analisados (ITS, LSU-D1D3 e LSU-D8D10) foi similar à de outros estudos, resultando na recuperação dos seis subclados de *O. cf. ovata* usualmente descritos na literatura (TIBIRIÇÁ, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2020) e corroborando a existência de diferentes linhagens genéticas de *O. cf. ovata* no mundo.

Partindo dos três marcadores, as análises confirmaram a ocorrência de *O. cf. ovata* majoritariamente na zona tropical e em parte da zona temperada do Norte (45°06'00.4"N) e do Sul (41°53'00.0"S). Estas análises permitiram identificar um padrão biogeográfico de ampla distribuição destas linhagens genéticas (A-F), compatível com o descrito na literatura (NASCIMENTO *et al.*, 2010; TOTTI *et al.*, 2010; SATO *et al.*, 2011; BRAVO *et al.*, 2012; TIBIRIÇÁ *et al.*, 2019).

O padrão de distribuição amplo de *O. cf. ovata*, vai ao encontro do consenso inicial de que espécies com tamanho menor que 1mm, provavelmente estão dispersas por todo o globo, e apenas espécies maiores teriam restrições geográficas (PENNA *et al.*, 2010). Contudo, a biogeografia dos protistas tem sido descrita como um tema controverso nos últimos anos (PENNA *et al.*, 2010). A controvérsia está no fato de que espécies semelhantes eram classificadas como sendo uma só espécie, por conta da dificuldade de diferenciação morfológica, resultando em falsas identificações e distribuições amplas irreais (PENNA *et al.*, 2010). Com base no conceito de espécie morfológica, as espécies dinoflageladas têm uma ampla distribuição, modificada pela latitude, e ocorrem em ambos os hemisférios. A falta de barreiras geográficas e a mistura de águas devido ao vento, ondas e correntes também deve facilitar a dispersão (PENNA *et al.*, 2010).

Estudo de análise multi-gene (rDNA), mostraram que o gênero *Ostreopsis* é formado de diferentes linhagens genéticas correspondentes a diferentes espécies (PENNA *et al.*, 2010). É sabido que analisar simultaneamente várias regiões do genoma garante informações importantes e robustez devido ao alto valor informativo. Destaca-se portanto, a importância do uso de dados moleculares, essenciais para delinear a biogeografia de espécies (PENNA *et al.*, 2010). A escolha dos marcadores ITS e LSU está relacionada ao fato de serem menos conservados. O SSU rDNA possui poucas sequências disponíveis em comparação com ITS e LSU. O ITS é muito utilizado por apresentar diversas cópias no genoma, sofrer evolução em concerto e por ter primers universais já descritos do cistron ribossômico nuclear 18S-5.8S-26S (ÁLVAREZ & WENDEL, 2003).

A ecorregião com maior número de subclados foi a Atlântico Tropical. As linhagens presentes neste reino, em suas duas províncias, são A, B, C, E e F. São quatro linhagens presentes nas duas províncias do reino Atlântico Norte Temperado (A, B, E e F), e no Indo-Pacífico Central (A, C, D e E). No Pacífico Norte Temperado, em duas de suas províncias também estão presentes quatro linhagens (A, B, C e E). São duas linhagens no reino Indo-Pacífico Ocidental (C e D) que ocorrem em uma província. Apenas uma linhagem está presente na América do Sul Temperado (A) em uma província, e no Pacífico Norte Temperado com (E), em suas duas províncias.

No Atlântico Tropical e Indo-Pacífico Central foram identificadas cepas pertencentes às cinco linhagens principais de *O. cf. ovata* (subclados A, B, C, D e E) (TABELA 2). No Atlântico Norte Temperado ocorrem quatro subclados: A, B, C e D, com as temperaturas máxima e média da água (18 a 23°C), e a salinidade (40) é a mais alta que das outras províncias (TABELA 2). No Indo-Pacífico Ocidental ocorrem três subclados: A, D e E, nesta região a temperatura média da água é de 29°C, e a salinidade é 34, similar a região Atlântico Tropical e a diversas províncias de ocorrência das cepas (TABELA 2). No Pacífico Norte Temperado, três subclados são encontrados: A, B e D, esta região apresenta a temperatura média das águas (23 a 26°C) e salinidade (32 – 34) comum aos reinos: Indo-Pacífico Central e Pacífico Oriental Tropical (TABELA 2). No Pacífico Oriental Tropical três subclados são encontrados A, C e E, nesta região, a temperatura média da água varia (25 a 28°C), e a salinidade (32 – 34), como ocorre no reino Pacífico Norte Temperado (TABELA 2). Por fim, no reino da América do Sul Temperado foram encontradas apenas cepas pertencentes ao subclado A. Na única província, Atlântico Sudoeste Temperado Quente, a temperatura média (26°C) e a salinidade (36) são comuns ao reino do Atlântico Tropical (TABELA 2).

TABELA 2. Número de cepas, porcentagem total de cepas em cada província e valores de temperatura média e salinidade média de ocorrência de *O. cf. ovata*.

Reino*	Nº de cepas (%)	Província*	Temperatura (°C)#	Salinidade #
Indo-Pacífico	87	25.Mar da China	36	34
Central	(34,6%)	Meridional		

		26. Plataforma Continental Sunda	36	32
		30. Triângulo Ocidental de Coral	34	32
Atlântico Norte Temperado	81 (32,2%)	3. Lusitaniana	23	40
		4. Mar Mediterrâneo	21	40
Atlântico Tropical	58 (23,1%)	12. Atlântico Noroeste Tropical	26	36
		14. Atlântico Sudoeste Tropical	36	36
Pacífico Norte Temperado	11 (0,4%)	8. Noroeste do Pacífico Frio Temperado	23	32
		9. Pacífico Noroeste Temperado Quente	26	34
América Sul Temperado	10 (0,3%)	47. Atlântico Sudoeste Temperado Quente	26	36
Indo-Pacífico Ocidental	3 (0,1%)	20. Oceano Índico Ocidental	29	34
Pacífico Oriental Tropical	1 (0,03%)	44. Galápagos	25	32

* SPALDING *et al.*, 2007.

TYBERGHEIN *et al.*, 2012 e ASSIS *et al.*, 2017.

Os três reinos mais numericamente expressivos em relação aos pontos de coleta de *O. cf. ovata* foram: Indo-Pacífico Central (87/251 cepas = 34,6%), Atlântico Norte Temperado (81/251 cepas = 32,2%), e Atlântico Tropical (58/251 cepas = 23,1%) (TABELA 2). Nestas três regiões, as temperaturas da água variaram de 18 a 36 °C e a salinidade variou entre 32 e 40 (TYBERGHEIN *et al.*, 2012; ASSIS *et al.*, 2017).

Salinidades inferiores a 28 são consideradas limitantes para a taxa de crescimento da população de *O. cf. ovata* (TINDALL & MORTON, 1998), e de fato, no presente trabalho não foram encontrados valores de salinidade menores que 28 nos reinos de ocorrência de *O. cf. ovata*. De acordo com o nosso levantamento, os sete reinos de ocorrência de *O. cf. ovata* apresentam salinidade da água do mar acima de 32, e predominantemente 34, salinidade presente em cinco reinos, o Indo-Pacífico Central – Mar da China Meridional, no Pacífico Norte Temperado – Pacífico Noroeste Temperado Quente e em duas províncias do Indo-Pacífico Ocidental (TABELA 2).

O maior número de registros de ocorrência de *O. cf. ovata* nos reinos Indo-Pacífico Central e Atlântico Norte Temperado pode ter relação com uma maior preocupação com os impactos sociais, econômicos e na saúde humana provocados pelas FANs em diversos países localizados nestas regiões, e especialmente de florações de *O. cf. ovata* no Mar Mediterrâneo, em países como Portugal, Espanha, Itália, Croácia e França (TABELA S2). Em contrapartida, os reinos com o menor número amostral, como o reino Indo-Pacífico Ocidental (3/251 cepas = 0,1%), América do Sul Temperado (9/251 cepas = 0,3%) e Pacífico Oriental Tropical (1/251 cepas = 0,03%) (TABELA 2) são regiões que não possuem um histórico de monitoramento regular das florações.

O haplótipo H1 (referente ao clado A) encontra-se amplamente distribuído nos oceanos (Figura 9, 11 e 13). O padrão apresentado dos haplótipos segue o padrão da Circulação Termohalina superficial (Figura 9, 11 e 13) (TALLEY *et al.*, 2011). O Oceano Pacífico está ligado a baixas latitudes até o Oceano Índico por meio das passagens no arquipélago indonésio (TALLEY *et al.*, 2011), o que explica a presença do H11 (clado C) nestes dois oceanos (Figura 9). A linhagem referente ao clado E apresenta distribuição disruptiva (H21, H25 e H24 no Oceano Pacífico e o H21 e H22 no Oceano Atlântico) (Figura 9). Essa distribuição poderia ser possibilitada pelo transporte de água de lastro de navio. Assim como a presença da linhagem referente ao clado C (H8) no Mar do Caribe, no Oceano Pacífico (Figura 11) e o

subclado B (H2) no Oceano Pacífico (Figura 13), e no Oceano Atlântico Norte a Sul, a distribuição das linhagens referentes aos subclados A (H1), F (H16 e H29), B (H9 e H25) (Figura 9 e 11), das correntes Atlântico Norte, Golfo, Canárias, Equatorial Norte e Sul e Atlântico Sul (TALLEY *et al.*, 2011).

O padrão de distribuição global de *O. cf. ovata*, que está presente nos três oceanos, e a similaridade genética das cepas estudadas, demonstra uma fraca estruturação genética, indicando fluxo gênico entre os diferentes reinos marinhos. As linhagens referentes aos subclados A, C, D e E estão amplamente distribuídas, e o subclado B está apenas no Atlântico Tropical e Norte Temperado. Dentre os motivos relacionados a boa capacidade de dispersão de *O. cf. ovata*, podem ser citados a sua forma predominante de reprodução assexuada, possuir estágios de resistência (cistos) e a formação de biofilmes que facilitam sua adesão a substratos. Além disso, existe a possibilidade do carreamento passivo natural de *O. cf. ovata* pelas correntes oceânicas ou por meio de ações antrópicas, na forma livre ou através da adesão a substratos naturais e artificiais (HALLEGRAEFF, 1988; MASÓ *et al.*, 2003; BROWN & LIMOLINO, 2006; SPALDING *et al.*, 2007; PENNA *et al.*, 2010; BRAVO *et al.*, 2012; COHU *et al.*, 2013).

Dentre os motivos relacionados a boa capacidade de dispersão de *O. cf. ovata*, pode ser citado a predominância da reprodução assexuada tanto em culturas como em populações naturais (BRAVO *et al.*, 2012). Os organismos com reprodução assexuada são reconhecidamente bons colonizadores, pois um indivíduo apenas pode fundar uma população completa através de mecanismos de reprodução assexuada (BROWN & LIMOLINO, 2006). Outro ponto que facilitaria a dispersão de *O. cf. ovata* é a formação de cisto (BRAVO *et al.*, 2012). É reconhecida a facilitação que os estágios de resistência agregam à dispersão de organismos (MASÓ *et al.*, 2003; BROWN & LIMOLINO, 2006). Inclusive foi identificada a germinação de cistos de *O. cf. ovata* embebido em mucilagem, após seis meses de incubação da amostra (BRAVO *et al.*, 2012).

Na literatura foi relacionado comprometimento de crescimento de *O. cf. ovata* a 16°C, e tendo impacto significativamente em sua taxa de crescimento de 20-26°C (NASCIMENTO & CORRÊA, 2010). Considerando esses resultados, as regiões que apresentariam temperatura limitante para o crescimento de *O. cf. ovata* seriam as três províncias do reino Atlântico Norte Temperado, a província Atlântico Noroeste Tropical do (reino Atlântico Tropical), as duas províncias do Pacífico Norte Temperado e o reino América do Sul Temperado (TABELA 2). Porém as regiões com estas condições tiveram cepas amostradas, como o Atlântico Norte Temperado que apresentou 32,2% das cepas obtidas, e as província Atlântico Noroeste Tropical

(H8, H16, H22 e H29), as províncias do Pacífico Norte Temperado (H1, H2, H4, H5, H6, H10, H15 e H20) e o reino América do Sul Temperado (H1, H3, H7, H12 e H16) (Figuras 9, 11 e 13).

Foi relatada a capacidade de dormência dos cistos de *O. cf. ovata* por até cinco meses após a sua formação, a temperaturas superiores a 25°C (ACCORONI *et al.*, 2014). Sendo assim, os cistos quiescentes talvez possibilitem a dispersão por longas distâncias dentro desta margem temporal, ou abundantes florações em momentos oportunos. A temperatura identificada de 25°C é uma média comum às zonas tropicais (ACCORONI *et al.*, 2014), e está dentro da faixa de temperatura de seis dos sete reinos de ocorrência de *O. cf. ovata*, com exceção apenas do Atlântico Norte Temperado (TABELA 2). Por outro lado, percebemos que no reino Atlântico Norte Temperado, cuja temperatura média da água é inferior a 25°C, é reconhecido alto número de registro de floração de *O. cf. ovata*. Suas duas províncias, Mar Mediterrâneo (21°C) com 65 cepas tem o maior número de cepas agrupadas do estudo, e Lusitaniana (23°C) com 20 cepas, é o quinto maior agrupamento do estudo (TABELA 1).

A possibilidade de sobrevivência de *O. cf. ovata* ao inverno por meio do encistamento no sedimento já foi relatada no Mar do Japão, na Rússia, entre os meses de agosto e outubro, quando a temperatura da água variou de 7°C a 25°C (SELINA & ORLOVA, 2010). A temperatura da região é apontada como um possível fator chave para a germinação de cistos (ACCORONI *et al.*, 2012; ACCORONI *et al.*, 2014). Além disto, foi descrita a possibilidade de que algumas espécies do gênero tenham maior tolerância à variação da temperatura da água (NASCIMENTO, 2012). Assim, cepas mais tolerantes poderiam dispersar para regiões com temperaturas consideradas previamente como sendo não ótimas para o crescimento de *O. cf. ovata*, e prosperar.

A dispersão passiva promovida por meio da circulação das correntes marinhas é reconhecida em diversos grupos (BROWN & LIMOLINO, 2006), incluindo protistas (BARNES, 2002; MASÓ *et al.*, 2003), dinoflagelados tóxicos (PENNA *et al.*, 2010), invertebrados marinhos sésseis ou sedentários e larvas de peixes (ÁLVAREZ-NORIEGA *et al.*, 2020). A distância percorrida na dispersão depende, por exemplo, da associação entre a velocidade das correntes marítimas e o regime hidrodinâmico presente na região (ÁLVAREZ-NORIEGA *et al.*, 2020).

Para a maioria dos invertebrados marinhos e larvas de peixes a dispersão observada ocorreu durante os estágios iniciais da vida desses organismos (ÁLVAREZ-NORIEGA *et al.*, 2020). Além disso, a distância de dispersão que os autores definiram como prevista por meio de correntes foi maior próxima às regiões dos trópicos e nos polos, e menor em latitudes

médias (ÁLVAREZ-NORIEGA *et al.*, 2020). A distância de dispersão que os autores apontaram como esperada nas latitudes médias era <100 km, e foi cerca de 50 km menor do que nos trópicos (ÁLVAREZ-NORIEGA *et al.*, 2020). Na região do Oceano Atlântico Norte o copépode *Calanus finmarchicus* apresentou altos níveis de dispersão inferida por técnica de modelagem (PROVAN *et al.*, 2018). Os altos níveis de dispersão de *C. finmarchicus* indica falta de estruturação genética em suas populações, fato também observado no padrão filogeográfico de *O. cf. ovata*.

Outra forma de dispersão passiva descrita na literatura é através da presença de cistos flutuantes de protistas bentônicos na água de lastro de navios (HALLEGRAEFF, 1988). Por meio da água de lastro o cisto em repouso, após a descarga da água, poderia interromper a dormência em uma nova região com condições sazonais adequadas para o seu crescimento (HALLEGRAEFF, 1988; BRAVO *et al.*, 2012). Assim, a germinação bem-sucedida de cistos promoveria seu crescimento, reprodução e propagação através de correntes costeiras ou domésticas por meio do transporte marítimo (HALLEGRAEFF, 1988).

Além disso, os substratos também podem fornecer uma oportunidade para a disseminação das espécies marinhas (BARNES, 2002). A adesão de *O. cf. ovata* aos substratos poderia ser propiciada devido à presença da mucilagem em suas células (CARNICER *et al.*, 2016). A dispersão passiva de *O. cf. ovata* pelas correntes pode ser potencializada por diversos substratos naturais e artificiais descritos na literatura (HALLEGRAEFF, 1988; FAUST, 1995; BARNES, 2002; MASÓ *et al.*, 2003; FAUST, 2009; JAUZEIN *et al.*, 2016). Os substratos biológicos relatados para *O. cf. ovata* na literatura são: corais, macroalgas, rochas vulcânicas, pedra-pomes, detritos oceânicos, detritos de manguezais e areia (HALLEGRAEFF, 1988; FAUST, 1995; BARNES, 2002; MASÓ *et al.*, 2003; FAUST, 2009; JAUZEIN *et al.*, 2016). E os substratos artificiais são os objetos à deriva de origem antropogênica, como os plásticos, madeira e vidro (HALLEGRAEFF, 1988; FAUST, 1995; BARNES, 2002; MASÓ *et al.*, 2003; FAUST, 2009; JAUZEIN *et al.*, 2016).

O aumento expressivo da quantidade de resíduos sólidos de origem humana que chegam aos oceanos é reconhecido mundialmente, em destaque para os resíduos plásticos, aumentando a chance de adesão ou carreamento dos organismos marinhos por estes substratos (BARNES, 2002; MASÓ *et al.*, 2003; TIBIRIČÁ *et al.*, 2019). Inclusive, foi documentada a presença de cistos temporários de espécies do fitoplâncton deslocando-se no mar, como o biofilme da microalga *Alexandrium taylori*, aderido a detritos plásticos (MASÓ *et al.*, 2003).

Assim, a associação substrato-dinoflagelado pode favorecer a colonização de novas regiões. Após chegarem a um novo local, os organismos podem se desprender do substrato e

ocupar locais propícios (CARLSON & TINDALL, 1985; JAUZEIN *et al.*, 2016), especialmente através da reprodução assexuada. Sendo assim, a associação de *O. cf. ovata* a substratos flutuantes pode representar um importante mecanismo para a colonização de novos ambientes (FAUST, 2004; JAUZEIN *et al.*, 2016).

Considerando que as mudanças climáticas acarretarão no aumento da temperatura média global em 1,5°C entre 2030 e 2052, caso continue a aumentar no ritmo atual (IPCC, 2019; 2022), e a elevação de meio metro do nível do mar, o reconhecido papel das alterações climáticas na intensificação global das FANs (MASÓ *et al.*, 2003; GRIFFITH & GOBLER, 2019), e o fato de *O. cf. ovata* se desenvolver melhor em águas mais quentes (NASCIMENTO *et al.*, 2020), suas florações poderiam passar a ocorrer em novas áreas. Visto que as florações de *Ostreopsis* têm sido registradas com maior frequência, durante as últimas duas décadas, principalmente em áreas temperadas quentes, como é o caso do Mar Mediterrâneo (CHOMERAT *et al.*, 2022). No Mar Mediterrâneo, *Ostreopsis* tem sido referido desde a década de 1970, mas tornou-se cada vez mais frequente, causando efeitos prejudiciais nas comunidades bentônicas marinhas por meio de florações intensas (CHOMERAT *et al.*, 2022).

O maior registro de *Ostreopsis* em zonas temperadas quentes, provavelmente é consequência das alterações climáticas nas últimas décadas (CHOMERAT *et al.*, 2022). Um evento que exemplifica o impacto ocorreu na costa do País Basco francês, no final do verão de 2020 e em meados do verão de 2021, onde 700 pessoas foram afetadas pelas OVTXs de duas espécies, *Ostreopsis* sp. 9 (*O. cf. siamensis*) e *O. cf. ovata* (CHOMERAT *et al.*, 2022). Deste resultado, ressaltou-se a suspeita de uma floração similar, que causou o mesmo distúrbio de saúde relatados em setembro de 2020 (CHOMERAT *et al.*, 2022). Enquanto o *Ostreopsis* sp. 9 (*O. cf. siamensis*) é uma espécie bem conhecida relatada na área há vários anos, geralmente sem grandes efeitos nocivos à população, essa foi a primeira identificação de *O. cf. ovata* na Baía da Biscaia (CHOMERAT *et al.*, 2022). O que é interessante, levando em consideração que havia sido feita anteriormente uma amostragem de grande escala geográfica na costa atlântica e francesa, realizada partindo do uso de métodos moleculares sensíveis em 2018 que não identificou *O. cf. ovata* na região do País Basco (CHOMERAT *et al.*, 2022). Partindo disto, foi postulada a hipótese de *O. cf. ovata* ter chegado a esta região numa introdução recente, o que é um sinal de alerta por representar uma causa possível de novos problemas futuros, em relação ao aquecimento global (CHOMERAT *et al.*, 2022), caso *O. cf. ovata* que está bem estabelecida no Mar Mediterrâneo e no Atlântico Sudoeste (Litoral Brasileiro), ampliasse a sua área de distribuição no Atlântico Norte (CHOMERAT *et al.*, 2022).

Por fim, a similaridade genética entre as cepas de um mesmo subclado presentes em diferentes oceanos sugere a presença de trocas genéticas recentes entre populações localizadas em regiões biogeográficas bem distintas, propiciadas hipoteticamente: pelo carreamento de *O. cf. ovata* por dispersão passiva pelas correntes marítimas; por meio da água de lastro de navios; através de substratos naturais como conchas de gastrópodes, corais, detritos de manguezais, madeira e substratos artificiais, como o plástico oceânico que é abundante. As características da espécie *O. cf. ovata* que podem potencializar sua capacidade de dispersão são: a predominância da reprodução assexuada, o que torna *O. cf. ovata* bons colonizadores em geral; a capacidade de produção de cistos (que podem permanecer a substratos através da mucilagem) e possuidores da capacidade de dormência superior há cinco meses. Outro aspecto que facilitaria a dispersão é a facilidade de *O. cf. ovata* habitar diversos substratos flutuantes temporários, vivos e artificiais por adesão do biofilme.

7. CONCLUSÕES

Após serem realizadas as análises filogeográficas de *O. cf. ovata* identificou-se seis linhagens (A, B, C, D, E e F). As possíveis linhagens cosmopolitas seriam: A e talvez E, pois existem poucas sequências para esta linhagem. As linhagens mais restritas seria talvez B, que ocorre no Oceano Atlântico, contudo, foram poucas sequências obtidas o que poderia ocultar o padrão real de distribuição. E as linhagens exclusivas seriam a C, que ocorre na região oceânica do Indo-Pacífico, a D que ocorre no Oceano Pacífico e a F que ocorre no Oceano Atlântico. Com estes resultados, corrobora-se a hipótese de que *O. cf. ovata* apresenta estrutura filogeográfica com linhagens divergentes apresentando indícios de distribuição alopátrica.

A similaridade genética entre as cepas de um mesmo subclado presentes em diferentes oceanos sugere a presença de trocas genéticas recentes entre populações localizadas em regiões biogeográficas bem distintas. Sendo estes padrões possivelmente explicados por características da espécie como a predominância da reprodução assexuada e encistamento, e por diferentes fatores que facilitam a dispersão, como o carreamento de cistos por água de lastro de navios e carreamento através de substratos naturais e artificiais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDENNADHER, M., ZOUARI, A. B., SAHNOUN, W., ALVERCA, E., PENNA, A. & HAMZA, A. 2017. *Ostreopsis cf. ovata* in the Gulf of Gabès (south-eastern Mediterranean Sea): morphological, molecular and ecological characterization. *Harmful Algae* 63, p. 56–67.
- ACCORONI, S., COLOMBO, F., PICHIERRI, S., ROMAGNOLI, T., MARINI, M., BATTOCCHL, C., PENNA, A., TOTTI, C. 2012. *Ecology of Ostreopsis cf. ovata* blooms in the northwestern Adriatic Sea. *Cryptogamie, Algologie* 33 (2), p. 191–198.
- ACCORONI, S., ROMAGNOLI, T., PICHIERRI, S. & TOTTI, C. 2014. *New insights on the life cycle stages of the toxic benthic dinoflagellate Ostreopsis cf. ovata*. *Harmful Algae* 34: p.7–16.
- ACCORONI, S. & TOTTI, C. 2016. *The toxic benthic dinoflagellates of the genus Ostreopsis in temperate areas: a review*. *Advances in Oceanography and Limnology*, 7 (1), p. 1–15.
- ALGAEBASE, 2022. *Ostreopsis*. Disponível em: <<https://www.algaebase.org/search/species/?name=ostreopsis>>. Acesso realizado em 19/08/2022.
- ÁLVAREZ I. & WENDEL, J.F. 2003. *Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 417-434.
- ÁLVAREZ-NORIEGA, M.; BURGESS, S. C.; BYERS, J. E.; PRINGLE, J. M.; WARES, J.P. & MARSHALL, D. J. 2020. *Global biogeography of marine dispersal potential*. *Nature Ecology & Evolution*, 4, p.1196–1203.
- ASSIS, J., TYBERGHEIN, L., BOSCH, S., VERBRUGGEN, H., SERRÃO, E. A. & DE CLERCK, O. 2017. *Bio-ORACLE v2.0: Extending marine data layers for bioclimatic modelling*. *Global Ecol Biogeogr.* p. 1–8. DOI: 10.1111/geb.12693.
- BANDEL, H. J., FORSTER, P. & ROHL, A. 1999. *Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies*. *Molecular Biology and Evolution*, [s.l.], v. 16,n. 1, p.37–48.
- BARNES, D. K. A. 2002. *Invasions by marine life on plastic debris*. *Nature*, 416, p. 808–809.
- BORSATO, G. T., SALGUEIRO, F., DA SILVA, C. G. T., MENEZES-SALGUEIRO, A. D. & NASCIMENTO, S. M. 2020. *Ostreopsis lenticularis* Y. Fukuyo (*Dinophyceae, Gonyaulacales*) from the South Atlantic Ocean: morphological and molecular characterization. *Marine Pollution Bulletin*, 158:111441.
- BOISNOIR, A.; BILLEN, G.; LEMÉE, R. & CHOMÉRAT, N. 2022. *First Insights on the Diversity of the Genus Ostreopsis (Dinophyceae, Gonyaulacales) in Guadeloupe Island, with Emphasis on the Phylogenetic Position of O. heptagona*. *Eur. J. Protistol.*, 83, 125875.
- BRAVO, I., VILA M., CASABIANCA, S., RODRIGUEZ, F., RIAL, P., RIOBÓ, P. & PENNA, A. 2012. *Life cycle stages of the benthic palytoxin-producing dinoflagellate Ostreopsis cf. ovata (Dinophyceae)*. *Harmful Algae* 18, p. 24–34.
- BROWN, J. H. & LIMOLINO, M. V. 2006. *Biogeografia*. 2ª Ed. Editora Funpec. Ribeirão Preto, SP.
- CALON, T.; SINNO-TELLIER, S.; DE HARO, L. & BLOCH, J. 2019. *Exposition à la palytoxine des personnes manipulant des coraux mous d'aquarium d'eau de mer: Étude des cas rapportés au réseau des Centres antipoison de 2000 à 2017*. *Toxicol. Anal. Clin.*, 31, p. 64–76.

- CARLSON, R. D. & TINDALL, D. R. 1985. *Distribution and periodicity of toxic dinoflagellates in the Virgin Islands*. Elsevier, p. 171–176.
- CARNICER, O., GARCÍA-ALTARES, M., ANDREE, K. B., DIOGÈNE, J. & FERNÁNDEZ-TEJEDOR, M. 2016. *First evidence of *Ostreopsis cf. ovata* in the eastern tropical Pacific Ocean, Ecuadorian coast*. *Botanica Marina* 59 (4), p. 267–274.
- CASTRESANA, J. 2000. *Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis*. *Molecular Biology and Evolution* 17, p. 540–552.
- CASTRO, N. O. & DE OLIVEIRA MOSER, G. A. 2012. *Florações de algas nocivas e seus efeitos ambientais*. *Oecologia Australis* 16 (2), p. 235–264.
- COHU, S., MANGIALAJO, L., THIBAUT, T., BLANFUNÉ, A., MARRO S. & LEMÉ, R. 2013. *Proliferation of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* in relation to depth, biotic substrate and environmental factors in the North West Mediterranean Sea*. *Harmful Algae* 24, p. 32–44.
- CHAUDHRY, N.L.; PRZYBEK, J.; HAMILTON, A. & CARLEY, F. 2016 *Unique Case of Palytoxin-Related Keratitis*. *Clin. Exp. Ophthalmol* 44, p. 853–854.
- CHOMERAT, N., ANTAJAN E., AUBY, I., BILIEN, G., CARPENTIER, L., CASAMAJOR, M. DE, GANTHY, F., HERVÉ, F., LABADIE, M., MÉTEIGNER, C., PARADIS, C., PERRIÈRE-RUMÈBE, M., SANCHEZ, F., SÉCHET, V. & AMZIL, Z. 2022. *First Characterization of *Ostreopsis cf. ovata* (Dinophyceae) and detection of Ovatoxins during a Multispecific and Toxic *Ostreopsis* Bloom on French Atlantic Coast*. *Mar. Drugs* 20, 461. <https://doi.org/10.3390/md20070461>.
- CHOMERAT, N., BILIEN, G.; VIALON, J.; HERVÉ, F.; RÉVEILLON, D.; HENRY, K.; ZUBIA, M.; VIEIRA, C.; UNG, A.; GATTI, C. M.; ROUÉ, M.; DERRIEN, A.; AMZIL, Z.; DARIUS, H. T. & CHINAIN, M. 2020. *Taxonomy and Toxicity of a Bloom-Forming *Ostreopsis* Species (Dinophyceae, Gonyaulacales) in Tahiti Island (South Pacific Ocean): One Step Further towards Resolving the Identity of *O. siamensis**. *Harmful Algae*, 98, 101888.
- FAUST, M. A. 2009. *Ciguatera-Causing Dinoflagellates in a Coral-reef Mangrove Ecosystem, Belize*. *Research Bulletin*, n. 569, p. 1–32.
- FAUST, M. A. 1995. *Observation of sand-dwelling toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from widely differing sites, including two new species*. *J. Phycol.* 31, p. 996–1003.
- FAUST, M. A. 2004. *The Dinoflagellates of Twin Cays: Biodiversity, Distribution, and Vulnerability*. *Special Volume, Atoll Research Bulletin*, 515, p.1–20.
- FAUST, M. A. 1999. *Three new *Ostreopsis* species (Dinophyceae): *O. marinus* sp. nov., *O. belizeanus* sp. nov., and *O. caribbeanus* sp.* *J. Phycol.* v. 38 (2), p. 92–99.
- FUKUYO, Y. 1981. *Taxonomical study on benthic dinoflagellate collected in coralreefs*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 47: 967–978.
- GÓMEZ, F., MOREIRA, D. & LÓPEZ-GARCÍA. 2011. *Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular*. *Hidrobiológico*, vol.21, n.3, p. 343–364. ISSN 0188-8897.
- GÓMEZ, F., QIU, D., LOPES, M. R. & SENJIE, L. 2017. *Morphological and molecular characterization of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* (Gonyaulacales:*

- Dinophyceae*) from Brazil (South Atlantic Ocean). *Revista de biología tropical*, v. 65, p. 1.022–1.033.
- GÓMEZ, F., RICHLIN, M. L., & ANDERSON, D. M. 2017. *Molecular characterization and morphology of Cochlodinium strangulatum, the type species of Cochlodinium, and Margalefidinium gen. nov. for C. polykrikoides and allied species (Gymnodiniales, Dinophyceae)*. *Harmful Algae*, 63, p. 32–44.
- GRANELI, E. & TURNER, J.T., 2006. *An introduction to harmful algae*. In: GRANELI, E. & TURNER, J.T. (Eds.), *Ecology of Harmful Algae*, v. 189. Springer, Berlin, p. 3–7.
- GRIFFITH, A. W. & Gobler, C. J. 2019. *Harmful algal blooms: A climate change co-stressor in marine and freshwater ecosystems*. *Harmful Algae*, DOI: 10.1016/j.hal.2019.03.008.
- GUERRINI, F., PEZZOLESI, L., FELLER, A., RICCARDI, M., CIMINIELLO, P., DELL'AVERSANO, C., TARTAGLIONE, L., DELLO IACOVO, E., FATTORUSSO, E., FORINO, M. & PISTOCCHI, R. 2010. *Comparative growth and toxin profile of cultured Ostreopsis ovata from the Tyrrhenian and Adriatic Seas*. *Toxicon* 55, p. 211–220.
- HALLEGRAEFF, G. M. 1998. *Transport of toxic dinoflagellates via ships' ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies*. *Marine Ecology Progress Series*, 168, p. 297–309.
- HALLEGRAEFF, G. M., ENEVOLDSEN, H. & ZINGONE, A. 2021. *Global harmful algal bloom status reporting*. *Harmful Algae*, v.102, 101992. DOI: 10.1016/j.hal.2021.101992.
- HOFFMANN, K.; HERMANN-CLAUSEN, M.; BUHL, C.; BÜCHLER, M.W.; SCHEMMER, P.; MEBS, D. & KAUFERSTEIN, S. 2008. *A case of palytoxin poisoning due to contact with zoanthid corals through a skin injury*. *Toxicon* 51, p. 1535–1537.
- IPCC – Painel Intergovernamental Sobre Mudanças Climáticas. 2022. *AR6 Synthesis Report: Climate Change 2022*. Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-cycle/>>. Acesso realizado em 17/05/2022.
- JAUZEIN, C., FRICKE, A., MANGIALAJO, L. & LEMÉE, R. 2016. *Sampling of Ostreopsis cf. ovata using artificial substrates: Optimization of methods for the monitoring of benthic harmful algal blooms*. *Marine Pollution Bulletin*, 107, p. 300–304. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.03.047.
- KATOH, K., ROZEWICKI, J. & YAMADA, K.D. 2019. *MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization*. *Briefings in Bioinformatics* 20, p. 1160–1166.
- KUMAR, S., STECHER, G. LI M., KNYAZ, C. & TAMURA, K. 2018. *MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms*. *Molecular Biology and Evolution* 35, p.1547–1549.
- LIBRADO, P. & ROZAS, J. 2009. *DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data*. *Bioinformatics*, v. 25, n. 11, p. 1.451–1.452.
- MASÓ, M., GARCÉS, E., PAGÈS, F. & CAMP, J. 2003. *Drifting plastic debris as a potential vector for dispersing Harmful Algal Bloom (HAB) species*. *SCI. mar.*, 67 (1), p. 107–111.
- NASCIMENTO, S.M. & CORRÊA, E.V. 2010. *Influence of temperature on growth parameters of Ostreopsis ovata, Prorocentrum cf. maculosum, Coolia monotis and*

- Amphidinium* sp. strains from Rio de Janeiro, Brazil. In: GEOHAB “Open Science Meeting on Harmful Algal Blooms in Benthic Systems”, Honolulu, Hawaii.
- NASCIMENTO, S. M. 2012. *Florações de microalgas tóxicas em sistemas bentônicos: estado da arte no Brasil*. Associação Brasileira de Oceanografia (AOCEANO). Congresso Brasileiro de Oceanografia – CBO 2012. Rio de Janeiro – RJ.
- NASCIMENTO, S. M.; CORREÂ, E. V.; MENEZES, M.; VARELA, D.; PAREDES, J. & MORRIS, S. 2012. *Growth and toxin profile of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) from Rio de Janeiro, Brazil*. Harmful Algae 13, p. 1–9.
- NASCIMENTO, S. M., NEVES, R. A. F., DE CARLI, G. A. L., BORSATO, G. T., SILVA, R. A. F., MELO, G. A., MORAIS, A. M., COCKELL, T. C., FRAGA, S., MENEZES-SALGUEIRO, A. D., MAFRA JR, L. L., HESS, P. & SALGUEIRO, F. 2020. *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae) Molecular Phylogeny, Morphology, and Detection of Ovatoxins in Strains and Field Samples from Brazil. Toxins 12, 70.
- NGUYEN-NGOC, L.; DOAN-NHU, H.; LARSEN, J.; PHAN-TAN, L.; NGUYEN, X.; LUNDHOLM, N.; VAN CHU, T. & HUYNH-THI, D.N. 2021. *Morphological and Genetic Analyses of *Ostreopsis* (Dinophyceae, Gonyaulacales, Ostreopsidaceae) Species from Vietnamese Waters with a Re-description of the Type Species, *O. siamensis**. J. Phycol. 57, p. 1059–1083.
- PENNA, A., VILA, M., FRAGA, S., GIACOBBE, M. G., ANDREONI, F., RIOBÓ, P. & VERNESI, C. 2005. *Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8S rDNA sequences*. J. Phycol. 41, p. 212–225.
- PENNA, A., FRAGA, S., BATTOCCHI, C., CASABIANCA, S., GIACOBBE, M. G., RIOBÓ, P. & VERNESI, C. 2010. *A phylogeographical study of the toxic benthic dinoflagellate genus *Ostreopsis* Schmidt*. Journal of Biogeography 37, p. 830–841.
- PICHIERRI, S., ACORRONI, S., PEZZOLESI, L., GUERRINI, F., ROMAGNOLI, T., PISTOCCHI, R. & TOTTI, C. 2017. *Allelopathic effects of diatom filtrates on the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata**. Marine Environmental Research 131 p. 116–122.
- PICHIERRI, S., PEZZOLESI, L., VANUCCI, S., TOTTI, C. & PISTOCCHI, R. 2016. *Inhibitory effect of polyunsaturated aldehydes (PUAs) on the growth of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata**. Aquat Toxicol, 179, p. 125–133. DOI: 10.1016/j.aquatox.2016.08.018.
- PROVAN, J.; BEATTY, G. E.; KEATING, S. L.; MAGGS, C. A. & SAVIDGE. 2018. *High dispersal potential has maintained long-term population stability in the North Atlantic copepod *Calanus finmarchicus**. Proceedings of the royal society B. DOI: 10.1098/rspb.2008.1062.
- SATO, S., NISHIMURA, T., UEHARA K., SAKANARI, H., TAWONG, W., HARIGANEYA, N., SMITH, K., RHODES, L., YASUMOTO, T., TAIRA, Y., SUDA, S., YAMAGUCHI, H. & ADACHI, M. 2011. *Phylogeography of *Ostreopsis* along West Pacific Coast, with Special Reference to a Novel Clade from Japan*. DOI: 10.1371/journal.pone.0027983.
- SHEARS, N.T. & BABCOCK, R.C., 2003. *Continuing trophic cascade effects after 25 years of no-take marine reserve protection*. Marine Ecology Progress Series 246, p. 1–16.
- SHEARS, N.T. & ROSS, P. M. 2009. *Blooms of benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis*; an increasing and ecologically important phenomenon on temperate reefs in New Zealand and worldwide*. Harmful Algae 8, p. 916–925.

- TALLEY L. D., PICKARD G. E., EMERY W. J. & SWIFT J. H. 2011. *Descriptive Physical Oceanography: An Introduction*. Elsevier, Burlington, MA, 560 pg.
- TAWONG, W., NISHIMURA, T., SAKANARI, H., SATO, S., YAMAGUCHI, H. & ADACHI, M. 2014. *Distribution and molecular phylogeny of the dinoflagellate genus *Ostreopsis* in Thailand*. *Harmful Algae*, v. 37, p. 160–171. DOI: 10.1016/j.hal.2014.06.003.
- TOTTI, C., ACCORONI, S., CERINO, F., CUCCHIARI, E. & ROMAGNOLI, T. 2010. *Ostreopsis ovata bloom along the Conero Riviera (northern Adriatic Sea): Relationships with environmental conditions and substrata*. *Harmful Algae* 9, p. 233–239.
- TICHADOU L.; GLAIZAL, M.; ARMENGAUD, A.; GROSSEL, H.; LEMÉE, R.; KANTIN, R.; LASALLE, J. L.; DROUET, G.; RAMBAUD, L.; MALFAIT, P. & HARO, L de.2010. *Health impact of unicellular algae of the *Ostreopsis* genus blooms in the mediterranean sea: Experience of the French Mediterranean coast surveillance network from 2006 to 2009*. *Clin. Toxicol.*, 48, p. 839–844.
- RHODES, L., ADAMSON, J., SUZUKI, T., BRIGGS, L. & GARTHWAITE, I. 2000. *Toxic marine epiphytic dinoflagellates, *Ostreopsis siamensis* and *Coolia monotis* (Dinophyceae), in New Zealand*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* v. 34, p. 371– 383.
- RONQUIST, F., TESLENKO, M., VAN DER MARK, P., AYRES, D. L., DARLING, A., HÖHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD, M. A. & HUELSENBECK, J. P. 2012. *MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space*. *Systematic Biology*, 61, p. 539–542.
- SCHMIDT, J. 1901. *Flora of Koh Chang. Contributions to the knowledge of the vegetation in the Gulf of Siam*. *Peridinales*. *Botanisk Tidsskrift* 24, p. 212–221.
- SANSONI, 2003. *Fioriture algali di *Ostreopsis ovata* (Gonyaulacales: Dinophyceae): un problema emergente*. *Biologia Ambientale* 17, p.17–23.
- SELINA, M. S. & ORLOVA, T. Y.2010. *First occurrence of the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae) in the Sea of Japan*. *Botanica Marina* 53 p. 243–249. DOI: 10.1515/BOT.2010.033.
- SPALDING, M. D., FOX, H. E., ALLEN, G. R., DAVIDSON, N.; FERDAÑA, Z. A., FINLAYSON, M., HALPERN, B. S., JORGE, M. A., LOMBANA, A., LOURIE, S. A., MARTIN, K. D., MCMAUS, E.; MOLNAR, J., Recchia, C. A. & ROBERTSON, J. 2007. *Marine Ecoregions of the World: A bioregionalization of coastal and shelf areas*. *BioScience*, n.7, v. 57.
- TARTAGLION, L., IACOVO, E. D., MAZZEO, A., CASABIANCA, S., CIMINIELLO, P., PENNA, A. & DELL’AVERSANO, C. 2017. *Variability in Toxin Profiles of the Mediterranean *Ostreopsis cf. ovata* and in Structural Features of the Produced Ovatoxins*. *Environ. Sci. Technol.* 51, p. 13.920–13.928.
- TIBIRIÇÁ, C. E. J., LEITE, I. P., BATISTA, T. V., FERNANDES, L. F., CHOMÉRAT, N., HERVE, F., HESS P. & MAFRA, L. L. 2019. **Ostreopsis cf. ovata* bloom in Currais, Brazil: phylogeny, toxin profile and contamination of mussels and marine plastic litter*. *Toxins*, 11(8), 446.
- TIBIRIÇÁ, C. E. J. de A. 2020. *Dinoflagelados bênticos em áreas de costões rochosos e recifes: distribuição, toxinas e impactos potenciais*. Pontal do Paraná, 154 páginas.
- TINDALL, D. & MORTON, S. 1998. *Community dynamics and physiology of epiphytic/benthic dinoflagellates associated with ciguatera*. In D. M. Anderson, A. D. Cembella and G. M. Hallegraeff (ed.) *Physiological ecology of harmful algal blooms*, Springer: 293-313.

- TOTTI, C., ACCORONI, S., CERINO, F, CUCCHIAR, E. & ROMAGNOLI, T. 2010. *Ostreopsis ovata* bloom along the Conero Riviera (northern Adriatic Sea): Relationships with environmental conditions and substrata. *Harmful Algae* 9, p. 233–239.
- TYBERGHEIN, L., VERBRUGGEN, H., PAULY, K., TROUPIN, C., MINEUR, F. & DE CLERCK, O. 2012. Global Ecology and Biogeography, (*Global Ecol. Biogeogr.*), 21, p. 272–281.
- VERMA, A., HOPPENRATHB, M., DORANTES-ARANDAC., J. J., HARWOODD, T. & MURRAYA, S. A. 2016. *Molecular and phylogenetic characterization of Ostreopsis (Dinophyceae) and the description of a new species, Ostreopsis rhodesae sp. nov., from a subtropical Australian lagoon.* *Harmful Algae* 60, p. 116–130.

9. ANEXOS – MATERIAL SUPLEMENTAR

TABELA S1. As cepas de *O. cf. ovata* estão dispostas em sete Reinos Biogeográficos descritos em negrito e as 15 províncias nomeadas em itálico.

Reinos Biogeográficos e Províncias
América do Sul Temperado
<i>47. Atlântico Sudoeste Temperado Quente (Warm Temperate Southwestern Atlantic)</i>
Atlântico Norte Temperado
<i>3. Lusitana (Lusitanian)</i>
<i>4. Mar Mediterrâneo (Mediterranean Sea)</i>
Atlântico Tropical
<i>12. Atlântico Noroeste Tropical (Tropical Northwestern Atlantic)</i>
<i>14. Atlântico Sudoeste Tropical (Tropical Southwestern Atlantic)</i>
Indo-Pacífico Central
<i>25. Mar da China Meridional (South China Sea)</i>
<i>26. Plataforma Continental Sunda (Sunda Shelf)</i>
<i>30. Triângulo Ocidental de Coral (Western Coral Triangle)</i>
<i>35. Sudoeste Pacífico Tropical (Southwestern Pacific)</i>
Indo-Pacífico Ocidental
<i>20. Oceano Índico Ocidental (Western Indian Ocean)</i>
Pacífico Norte Temperado
<i>8. Noroeste do Pacífico Frio Temperado (Cold Temperate Northwest Pacific)</i>
<i>9. Pacífico Noroeste Temperado Quente (Warm Temperate Northwest Pacific)</i>
Pacífico Oriental Tropical
<i>44. Galápagos (Galapagos)</i>

TABELA S2. Locais de coleta: pontos de coleta dos três *loci* de interesse ITS, D1D3 e D8D10.

Países ou Territórios	Locais de Coleta
Austrália	Grande Barreira de Corais
Belize	Carrie Bow Cay Field Station
Brasil	RJ: Arraial do Cabo, Búzios e Paraty. SP: Ubatuba, Salesópolis, Ilha comprida e Cananéia. BA: Salvador. PE: Fernando de Noronha, Recife e Jaboatão dos Guararapes. RN: Parnamirim e Tibau do Sul. AL: Maceió.
China	Hainan
Croácia	Dubrovnik, Opécina Bale, Opécina Rovinj E Opécina Vrsar
Cuba	Playa Rancho Luna
Equador	Ilha de Santa Fé
Espanha	Los Canarios, La Costa, Famara, Palma, Barcelona, Canyet de Mar e Girona
França	Sent. du Littoral e Nice
Golfo da Guiné	Costa ocidental da África
Grécia	Elliniko, Alimos, Nea Koutali, Sitônia, Kallikrateia e Samothraki
Guadalupe	Sainte-Anne
Ilha da Reunião	Saint-Leu e Saint-Paul
Indonésia	Celebes do Norte
Itália	Messina, Reggio Calabria, Alghero, Bari, San Felice Circeo, Tossa de Mar, Ancona, Pisa, Spezia e Génova
Japão	Okinawa, Kōchi e Hokkaido
Líbia	Ash Shatii
Malásia	Negeri Sembilan, Terengganu e Sabá
Portugal	Praia da Luz e Lagos

Tailândia	Chumphon, Chang Trat, Trat, Rayong e Chanthaburi
Tunísia	Golfo de Boughrara, Groua, Sousse e Zarzouna
Vietnã	Kien Giang e Thua Thien-Hue