Memorias de
Curso Internacional de Postgrado
y especialización de

MACROALGAS EN AMBIENTES SUBANTÁRTICOS

Ediciones Universidad de Magallanes
Punta Arenas - Chile
2003

MICROALGAS MARINAS: TOXINAS Y SÍNDROMES ASOCIADOS.

MARINE MICROALGAE: TOXINS AND ASSOCIATED SINDROM.

Eugenia A. Sar[1]

INTRODUCCIÓN

Varios grupos de microalgas marinas han sido reportados como productores de floraciones nocivas en distintas áreas del mundo. Estos eventos pueden resultar perjudiciales y aun deletéreos por dos razones básicas:

- porque producen grandes poblaciones en ambientes marinos costeros a raíz de las cuales generan anoxia en la columna de agua o taponamientos de branquias de peces y moluscos filtradores,
- porque producen sustancias tóxicas que afectan o matan a diferentes integrantes de la cadena trófica incluido el hombre.

Los grupos de algas que han estado implicados fehacientemente en fenómenos de toxicidad son: Dinophyta (dinoflagelados), Bacillariophyta (diatomeas), Haptophyta (Prymnesiophyceae) y Raphidophyta.

Según Hallegraeff (1993, 1995) el aumento de la presión antrópica sobre los ambientes marinos cercanos a las costas es la razón principal del incremento en la ocurrencia de floraciones algales nocivas. Esta presión se ejerce por muchas vías, de las que mencionaremos como ejemplo sólo las más evidentes:

- maricultura de peces y moluscos
- liberación de efluentes cloacales sin tratamiento terciario
- aporte de desechos industriales y agrícolas
- cambios drásticos en el uso de la tierra, tales como deforestación
- introducción de especies exóticas que son trasladadas en las aguas de lastre de los buques.

En los primeros cuatro casos planteados se produce como obvia consecuencia, un importante incremento en la concentración de nutrientes, quelantes, sustancias húmicas, etc., que estimula la floración de especies del fitoplancton eventualmente nocivas y, en el último caso, se produce un aumento forzado y rápido en la distribución de especies algales nocivas.

Los fenómenos de floraciones algales nocivas (FANs), que no necesariamente deben tener concentraciones celulares tan altas como para ser ópticamente evidentes, significan un impedimento para el desarrollo sustentable de la maricultura y una amenaza para la continuidad de las actividades extractivas, impactando negativamente sobre las economías costeras y entrañando además, un alto riesgo para la salud humana.

A fin de paliar estos graves inconvenientes los Estados deben dictar normativas regulatorias para la eliminación de desechos de cualquier origen y para la liberación controlada de las aguas de lastre y financiar programas de monitoreo para contar con información científica que les permita tomar decisiones fundadas sobre establecimiento de vedas, control de alimentos, control de plantas depuradoras, selección de áreas para establecer cultivos, estrategia hospitalaria, etc.

Un buen programa de monitoreo permite recoger información acerca de: inicio y declinio de FANs, condiciones bajo las cuales se producen, especies que las producen, concentraciones de toxinas detectadas en el fitoplancton y en los recursos explotables susceptibles de contaminación e identificación de nuevas toxinas o efectos nocivos. Por otro lado aspira, en el largo plazo, a hacer predicciones fundadas acerca de la posibilidad de que se desencadenen episodios perjudiciales.

El objetivo del presente trabajo es presentar un análisis somero de los grupos de microalgas alguna de cuyas especies han sido

[1] Departamento Científico Ficología, Paseo del Bosque s/n, CP 1900, La Plata, Argentina. E-mail: easar@museo.fcnym.unlp.edu.ar

señaladas como toxígenas, del tipo de toxina que ellas producen y de los síntomas que estas toxinas causan al hombre.

DINOPHYTA

Las principales características de este grupo de algas pueden resumirse del siguiente modo siguiendo los criterios de Lee (1999), van den Hoeck *et al.* (1995) y Balech (1988):

1.- El nivel de organización más común de las Dinophyta es unicelular, y el tipo morfológico flagelado. Sin embargo, unos pocos miembros del grupo son unicelulares cocales o filamentosos.

2.- Las células presentan dos flagelos heteromórficos y heterodínamos, que pueden ser de inserción apical en los miembros del O. Prorocentrales o de inserción ventral, ubicados en surcos en los miembros de los Órdenes Dinophysiales, Peridiniales y Gymnodiniales entre otros. Al surco ecuatorial se le denomina cingulum y al longitudinal sulcus y ambos flagelos portan mastigonemas, una hilera el flagelo cingular y dos el flagelo sulcal.

3.- Las células con flagelos apicales pertenecientes al O. Prorocentrales se caracterizan por tener una teca muy sencilla, bivalvar y con aplastamiento bilateral. En el extremo anterior, entre las placas mayores de la teca, se haya un conjunto de plaquitas minúsculas, hasta 8 ó 9 que delimitan un par de poros por donde emergen los flagelos.

4.- Las células características del O. Dinophysiales tienen una teca comprimida lateralmente, con tres regiones: la epiteca, el cíngulum y la hipoteca. El sulcus está ubicado en el margen ventral limitado por aletas sulcales. Cada una de las mencionadas regiones de la célula está compuesta por cuatro placas, dos dorsales mayores y dos menores y dos ventrales mayores y dos menores. El cíngulum está limitado por dos membranas, una anterior y otra posterior.

5.- Las células características del O. Peridiniales están generalmente comprimidas dorsiventralmente y presentan tres regiones: la epiteca, el cíngulum y la hipoteca. La epiteca lleva una serie de placas a las que se denomina, placa del poro (Po), placas apicales (') y placas precingulares (") pudiendo presentarse placas intercalares (a). El cíngulum presenta entre 3 y 13 placas y la hipoteca presenta dos series de placas, las postcingulares ("') y las antapicales ("""). El sulcus presenta entre 4 y 10 placas.

6.- Los miembros clorofilianos del grupo presentan cloroplastos rodeados por tres unidades de membrana, la última se origina del retículo endoplasmático y las lamelas son tritilacoidales. Los pigmentos son clorofilas a y c, ß-carotenos y varias xantófilas, la más importante de las cuales es la peridinina.

7.- La principal sustancia de reserva es el almidón, que es sintetizado fuera del cloroplasto y almacenado en forma de gránulos. Adicionalmente se han encontrado reservas lipídicas en algunos miembros del grupo.

8.- La cubierta celular, llamada anfiesma, es interna respecto de la plasmalema y está constituida por vesículas de retículo endoplasmático y microtúbulos relacionados. Las vesículas pueden contener en su interior placas tecales, en el caso de los organismos tecados, o estar vacías, en el caso de los organismos atecados o desnudos.

9.- Los tipos de nutrición más frecuentes son auxotrofia y heterotrofia. En el primer caso usan compuestos inorgánicos como fuente de carbono y luz solar como fuente de energía, pero requieren de compuestos orgánicos elaborados tales como las vitaminas. Los heterótrofos pueden ser osmiótrofos, absorben compuestos orgánicos solubles a través de la plasmalema, o fagótrofos, incorporan partículas de alimento en vesículas alimentarias que ulteriormente digieren. Algunos organismos son mixótrofos, es decir, heterótrofos facultativos y existen algunas formas parásitas.

10.- La reproducción asexual de los organismos unicelulares flagelados se lleva a cabo por división celular, que puede ser longitudinal, transversa u oblicua.

11.- La reproducción sexual puede ser por iso o anisogamica, formando una planocigota que permanece en el plancton unos días para luego formar una hipnocigota o quiste de resistencia que

cae a los sedimentos. Estos quistes, que presentan diversas morfologías, pueden permanecer viables en el sedimento por varios años si las condiciones son favorables y pueden germinar luego de un período de maduración que es variable según las especies. El ciclo de vida más generalizado es monogenético haplonte y la reducción es cigótica.

12.- Las células vegetativas sometidas a condiciones desfavorables pueden romper la teca, liberar su protoplasto (ecdisis) y formar quistes temporarios que son capaces de originar rápidamente una célula vegetativa.

Toxinas producidas por dinoflagelados

Los dinoflagelados pueden producir toxinas que tienen efectos letales, subletales o nocivos para humanos y algunos animales marinos. Los envenenamientos humanos sobrevienen a causa del consumo de organismos que han acumulado la toxina, a los que se denomina vectores. Éstos pueden ser bivalvos, en menor proporción gasterópodos y algunas especies de peces. El contacto directo de personas con aguas en que se producen floraciones de especies nocivas puede provocar irritación en la piel, dermatitis, irritación en la mucosa nasal y otras molestias que no resultan de gravedad y no requieren tratamiento.

Desde un punto de vista médico y epidemiológico, los síndromes clínicos de intoxicación o envenenamiento varían según las toxinas que estén involucradas en el evento.

Así se reconoce el Síndrome diarreico, que en inglés se denomina Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP). Con este nombre se designa además, a un complejo de toxinas lipofílicas entre las que se encuentran:

- el ácido okadaico (OA) y varias dinofisistoxinas (DTXs) que tienen efecto diarreico y son producidas por algunas especies de *Dinophysis (D. acuta, D. acuminata, D. caudata, D. fortii, D. norvegica, D. mitra, D. rapa, D. rotundata, D. tripos)* y de *Prorocentrum (P. lima, P. micans, P. minimun)*
- varias pectenotoxinas (PTXs) con efecto hepatotóxico sobre animales de laboratorio, producidas por especies de *Dinophysis (D. fortii, D. acuta)*
- varias yesotoxinas (YTXs) con efecto neurotóxico y cardiotóxico sobre ratón, producidas por *Protoceratium reticulatum.*

Fernández (1998) señaló que las pectenotoxinas y yesotoxinas han demostrado ser muy tóxicas para ratones pero que no se ha establecido experimentalmente que causen daños en humanos. La mayoría de los países que hacen controles para detección de DSP utilizan ensayo ratón y el criterio para resultados positivos puede variar entre dos de tres ratones muertos en menos de 5 horas a dos de tres ratones muertos en menos de 24 horas (Fernández & Cembella 1995). La Unión Europea estableció que el límite regulatorio para consumo humano es de 16 µg de OA/ 100 g de carne de molusco, sin embargo, hay criterios diferentes entre los países que establecen regulaciones.

La sintomatología producida por DSP consiste en molestias gastrointestinales: diarreas, náuseas, vómitos, dolores abdominales y escalofríos (Salgado Blanco 1994)[1]. Los síntomas aparecen entre los 30 minutos y varias horas después de la ingestión de moluscos contaminados y la recuperación se produce entre los tres y cuatro días sin tratamiento. Hasta el presente no ha sido reportada mortalidad en humanos debida a DSP, sin embargo las toxinas diarreicas provocan cambios degenerativos en el epitelio del intestino delgado y promueven la formación de tumores (Cembella *et al.* 1995).

El Síndrome paralizante en inglés se denomina Paralythic Shellfish Poisoning (PSP). Con ese nombre se designa además a un complejo de toxinas entre las que se encuentran alrededor de dos docenas de derivados de la saxitoxina (STX):

- neosaxitoxina (neoSTX), decarboneosaxitoxina (dcneoSTX) y otras
- el grupo de las gonyaulatoxinas (GTXs)
- el grupo de las decarbamoil-gonyaulatoxinas (dcCTXs)
- el grupo de las sulfocarbamoil-saxitoxinas (Cs).

Todas estas toxinas tienen propiedades análogas, son neurotóxicas, hidrosolubles, generalmente térmicamente estables a pH ácido e inestables y fácilmente oxidables en condiciones alcalinas. Los organismos productores de PSP son varias especies del género *Alexandrium (A.*

[1] Salgado Blanco, M.C. 1994. Estudios de determinación y síntesis de biotoxinas P.S.P. en moluscos tóxicos de las Rías Gallegas. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela, 232 pp.

acatenella, A. angustitabulatum, A. affine, A. catenella, A. excavatum, A. minutum, A. monilatum, A. tamarense), Gymnodinium (G. catenatum, G. mikimotoi, G. sanguineum), Gyrodinium (G. aureolum, G. galatheanum) y Pyrodinium bahamense[2]. Los organismos vectores del PSP son principalmente moluscos bivalvos pero pueden funcionar como tales gasterópodos, crustáceos y peces pelágicos. Montoya *et al.* (1998) reportaron altas concentraciones de PSP en vísceras de *Engraulis anchoita* durante un bloom de *Alexandrium tamarense* ocurrido en aguas costeras de Argentina en 1993, lo que indica que estos peces son vectores eventuales de la toxina.

La mayoría de los países hacen controles para detección de PSP utilizando ensayo ratón. Las unidades que se utilizan para medir concentraciones de PSP según este método son las unidades ratón (MU), que se definen como la concentración de toxina que inyectada intraperitonealmente mata a un ratón de alrededor de 20 g de peso en 15 minutos (Fernández & Cembella 1995). La Unión Europea estableció que el límite regulatorio para consumo humano es de 80 µg eq. STX / 100 g de carne de molusco (Egmond *et al.* 1991) lo que equivale según Salgado Blanco (1994)[1] a 400 MU / 100 g de carne de molusco.

La sintomatología producida por PSP consiste en: picazón o ardor en torno a la boca, labios, lengua, cara y cuello, alteraciones del sistema nervioso, sensación progresiva de entumecimiento muscular, debilidad, dolor de cabeza, taquicardia, sequedad en boca y garganta, náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal, pérdida de coordinación motora, parálisis del sistema respiratorio y en casos severos puede sobrevenir la muerte por asfixia. Los síntomas aparecen alrededor de 30 minutos después de la ingestión de moluscos tóxicos y los pacientes pueden morir entre las 2 y las 24 horas dependiendo de la cantidad de veneno ingerido. Los tratamientos a aplicar son lavados gástricos para impedir la absorción de la toxina y respiración artificial. Por otro lado como la toxina es eliminada por orina se suministran grandes cantidades de agua mineral rica en iones sodio y potasio y tratamiento con diurético enérgico (Salgado Blanco 1994)[1]. Una terapia que se aplica en el ámbito hospitalario es el bombeo de sangre del enfermo a través de un filtro de carbón activado que retiene la toxina. Superado el episodio y eliminada la toxina se produce recuperación total sin daño permanente alguno.

La ciguatera, es un síndrome al que se denomina en inglés Ciguatera Fish Poisoning (CFP). Las toxinas implicadas en la producción de este síndrome son:

- la maitotoxina, soluble en agua
- la ciguatotoxina (CTX), liposoluble y neurotóxica y sus precursores las gambiertoxinas.

Los organismos productores de estas toxinas son *Gambierdiscus toxicus, Ostreopsis heptagona, lenticularis, O. ovata* y *O. siamensis,* dinoflagelados bénticos que crecen asociados a los arrecifes de coral y *Prorocentrum lima* y *P. mexicanum* (Cortés Altamirano 1998). Los peces herbívoros ingieren a estos organismos y acumulan sus toxinas, las que son concentradas en los carnívoros. La acumulación de la toxina se hace en vísceras y en menor medida en músculo de peces. La ingestión de peces toxígenos por el hombre hace que éste desarrolle el síndrome ciguatérico. Glaziou & Legrand (1994) señalaron que son varios cientos las especies de peces que podrían actuar como potenciales vectores de la toxina.

No existen hasta el presente métodos de rutina para control de estas toxinas que causan ciguatera y la única medida preventiva que se aplica es la prohibición de consumir especies de peces potencialmente contaminadas.

El síndrome ciguatérico es una enfermedad circumtropical que afecta alrededor de 25.000 personas por año según Ruff & Lewis (1994) y 50.000 según Legrand (1998). Las manifestaciones clínicas de ciguatera son variables tanto en síntomas como en intensidad y duración y pueden ser digestivas inespecíficas, diarreas y dolor abdominal; trastornos cardiovasculares, bradicardia, hipotensión, pérdida de fluidos corporales; y trastornos neurológicos, inversión de las sensaciones de frío y calor, problemas de sensibilidad, etc. La sintomatología sobreviene entre las 2 y las 30 horas luego de la ingestión del pez tóxico y puede transformarse en crónica. No hay hasta el presente tratamientos efectivos y sólo se hacen tratamientos sintomáticos, según Glaziou & Legrand (1994) el manitol puede aliviar los síntomas por inactivación de la toxina implicada.

Otro tipo de síndrome conocido es el neurológico, Neurological Shellfish Poisoning (NSP) causado por brevetoxinas (BTXs). Estas son

[2] Algunas especies de Cyanophyta de agua dulce son también productoras de PSP.

producidas por *Gymnodinium breve*, una dinofita que ha sido reportada para el Golfo de México y que a menudo provoca mortandad masiva de peces. Landsberg & Steidinger (1998) relacionaron la mortandad masiva de manatíes ocurrida en Florida en la primavera de 1996 con un episodio de marea roja producida por *Gymnodinium breve*.

El primer caso de envenenamiento de humanos con brevetoxinas por ingestión de moluscos bivalvos contaminados ocurrió en Nueva Zelanda en 1992/93 (Ishida *et al.* 1996). Estos autores determinaron que el organismo responsable del episodio fue *Gymnodinium breve*. Los pacientes intoxicados presentaron síntomas neurológicos y gastrointestinales y se recobraron sin tratamiento luego de unos pocos días. Taylor *et al.* (1995) señalaron que el aerosol de la toxina puede ser responsable además de síntomas de asma.

El nivel regulatorio de brevetoxina en moluscos para consumo humano que se maneja en Estados Unidos y Nueva Zelanda, países afectados, es cero, es decir indetectable por bioensayos (Shumway *et al.* 1995).

Varias especies de dinoflagelados tales como *Gymnodinium pulchellum, G. veneficum, Peridinium polonicum* pueden ser ictiotóxicas y *Prorocentrum mexicanum* puede producir toxinas hemolícas (Taylor *et al.* 1995). Rensel (1995) menciona otros dinoflagelados capaces de producir pérdidas en áreas de cultivo de peces: *Alexandrium tamarense* y *A. catenella, Cochlodinium* spp, *Ceratium fusus,* que causan irritación en branquias y pérdida de larvas de ostras, *Gymnodinium mikimotoi,* que produce gimnodinina que no se considera riesgosa para la salud humana, y *Noctiluca scintillans* que causa daño en la superficie epitelial de branquias y en el sistema digestivo de peces.

Una lista más exhaustiva de especies productoras de diferentes tipos de toxinas puede ser consultada en Cortés Altamirano (1998).

BACILLARIOPHYTA

Las principales características de este grupo de algas pueden resumirse del siguiente modo siguiendo los criterios de Lee (1999), van den Hoeck *et al.* (1995) y Round *et al.* (1990):

1.- Los niveles de organización de las diatomeas son unicelular y colonial, y el tipo morfológico cocal.

2.- Las células presentan una cubierta celular silícea con capa orgánica, a la que se denomina frústulo, que está constituida por dos piezas empotradas. Cada una de las piezas constituyentes del frústulo se denomina teca, la externa epiteca y la interna hipoteca. La teca está formada por la valva y el cíngulo. Se dice que un frústulo está ubicado en vista valvar cuando se lo ve desde la epi o la hipovalva, y en vista conectival cuando se lo ve desde la cintura. Los frústulos son muy variables en forma, patrones de simetría y estructura.

3.- Los cloroplastos están rodeados por cuatro unidades de membrana, de las cuales las dos últimas tienen origen en el retículo endoplasmático, las lamelas son tritilacoidales. Los pigmentos son: clorofilas a y c, ß-carotenos y varias xantófilas, la más importante de las cuales es la fucoxantina.

4.- La principal sustancia de reserva es la crisolaminarina que es almacenada en vacuolas fuera de los cloroplastos. Adicionalmente se han encontrado reservas lipídicas en algunos miembros del grupo.

5.- Las únicas células flageladas son las gametas masculinas de los miembros de O. Centrales. El flagelo es pleuronematado y se caracteriza porque el axonema carece de los dos microtúbulos centrales.

6.- La reproducción asexual es por división de una célula en dos. La división se produce en el plano valvar y cada una de las tecas de la célula parental pasa a ser epiteca de las células hijas, las que formarán una nueva hipoteca. De este modo en sucesivas generaciones se produce una reducción del tamaño de la célula.

7.- La reproducción sexual es oógama en diatomeas céntricas e isógama en diatomeas pennadas, las cigotas (auxosporas) no pasan por un período de reposo y a partir de ellas se restituye el tamaño original de las células. El ciclo de vida es monogenético diploide, con reducción gamética.

8.- Las células vegetativas pueden producir estatosporas o esporas de resistencia bajo condiciones ambientales desfavorables. Las estatosporas pueden ser endógenas, exógenas o

semiendógenas, tienen paredes muy gruesas y pueden originar nuevas poblaciones planctónicas cuando son restablecidas las condiciones ambientales favorables.

9.- La nutrición es autótrofa o auxótrofa en la mayoría de los miembros del grupo y heterótrofa facultativa en algunas especies de pennadas bénticas que crecen en aguas someras.

Toxinas producidas por diatomeas

Nuestro conocimiento acerca de que las diatomeas son capaces de producir toxinas letales para el hombre es relativamente reciente. El primer episodio de intoxicación masiva, que costó la vida a tres personas y produjo síntomas agudos a 105, ocurrió en la Isla Prince Edward, Canadá y en todos los casos la enfermedad estuvo asociada al consumo de mitílidos (Bates *et al.* 1989). El análisis de los mitílidos permitió detectar ácido domoico, que había sido anteriormente encontrado en *Chondria armata* (Takemoto & Daigo 1958). Si bien en el área del evento se encontraban poblaciones de otra especie de *Chondria* productora de ácido domoico, *Ch. baileyana*, la atención se concentró en el fitoplancton que es fuente de alimento de los mitílidos y de donde éstos acumulan toxinas. Concurrentemente los extractos de plancton inyectados a ratones produjeron síntomas similares a los que provocaban los extractos de mitílidos tóxicos. Esto llevó a los científicos comprometidos en la investigación del episodio a la hipótesis de que la especie dominante de aquella floración era la productora de la neurotoxina. Para confirmarlo investigaron la producción de ácido domoico *in vitro* a partir de cultivos unialgales de la especie identificada en aquel momento como *Nitzschia pungens* f. *multiseries*, hoy denominada *Pseudo-nitzschia multiseries*.

Poco tiempo después del episodio descrito, Martin *et al.* (1990) detectaron ácido domoico en fitoplancton de la Bahía Fundy en relación con la presencia de *Pseudo-nitzschia pseudodelicatisima* y Buck *et al.* (1992) detectaron la toxina durante un episodio de floración de *Pseudo-nitzschia australis* que provocó mortalidad masiva de cormoranes y pelícanos en la Bahía de Monterrey por consumo de anchoita que actuó como organismo vector.

En 1998 hubo una mortandad masiva de leones marinos que desarrollaron signos de disfunción neurológica en la costa central de California. Este episodio, descripto por Scholin *et al.* (2000) estuvo vinculado a una floración de *Pseudo-nitzschia australis* y las concentraciones de ácido domoico fueron altas en anchoita, pez planctívoro que actuó como vector, y en los fluidos corporales de los leones. En contraste los mitílidos colectados durante el episodio sólo mostraron trazas de ácido domoico lo que alertó acerca de las limitaciones de los monitoreos basados en el chequeo de toxinas en estos organismos.

Numerosas investigaciones llevadas a cabo sobre cultivos unialgales de varias especies de *Pseudo-nitzschia*, realizadas con el propósito de detectar producción de ácido domoico, permitieron establecer que son productoras de la toxina *P. delicatissima* (Smith *et al.* 1991), *P. seriata* (Lundholm *et al.* 1994), *P. pungens* y *P. turgidula* (Rhodes *et al.* 1996) y *P. fraudulenta* (Rhodes *et al.* 1998). Información sobre las concentraciones de ácido domoico en cada uno de los eventos descritos y en los cultivos en los que se hacen los hallazgos de producción de la toxina puede encontrarse resumida en Sar (1999) e información taxonómica, ecológica y distribucional de todas las especies toxígenas de *Pseudo-nitzschia* puede ser consultada en Ferrario *et al.* (en prensa).

Otra especie mencionada en la literatura como productora de ácido domoico (Shimizu *et al.* 1989, Maranda *et al.* 1990) es *Amphora coffeaeformis*, sin embargo su condición de toxígena no pudo ser confirmada por ulteriores estudios realizados sobre la base de cultivos de dos cepas del Provasoli-Guillard Center for Culture of Marine Phytoplankton (Bates *et al.* 1989).

El ácido domoico produce un síndrome amnésico que se denomina en inglés Amnesic Shellfish Poisoning (ASP). Con ese nombre se designa además, a un complejo de toxinas entre las que se encuentran el ácido domoico (DA) y ácido isodomoico A, B, C, D, E, F, entre otras (Ravn 1995).

El ácido domoico es un aminoácido hidrosoluble, neuroexitatorio y neurotóxico, que actúa como agonista del glutamato, un neurotransmisor del sistema nervioso central (Pocklington *et al.* 1989), la toxina es absorbida a través de la mucosa gastrointestinal y tiene también actividad gastrotóxica.

Los síntomas de envenenamiento con

ácido domoico son: náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, dolor de cabeza, anorexia, confusión, aprehensión, alucinaciones, pérdida de la memoria, desorientación, y coma seguido de muerte en los casos graves; el síntoma persistente una vez superada la etapa aguda de la intoxicación es la pérdida de la memoria de corto plazo (Todd 1990, Ravn 1995). Esta sintomatología puede sobrevenir entre las 24 y las 48 horas luego de producida la ingestión de moluscos tóxicos pudiéndose llegar a la muerte según la cantidad de veneno ingerido y la sensibilidad del paciente. Los tratamientos a aplicar son de soporte.

Aún son pocos los países que hacen controles para detección de ASP. Canadá, Estados Unidos y Nueva Zelanda han establecido el límite regulatorio para consumo humano en 20 μg de AD/g de carne de molusco sobre la base de los datos epidemiológicos reunidos en los eventos en que hubo intoxicación de personas (Fernández 1998). Con respecto a los procedimientos para chequear la toxina en alimento se utiliza cromatografía líquida de alta presión (HPLC) porque el ensayo ratón no es suficientemente sensible para las concentraciones límite pautadas. Según Fernández & Cembella (1995) este último ensayo permite detectar concentraciones cercanas a los 40 μg de AD / g de carne de molusco, el doble del límite establecido para consumo humano. El tiempo de observación de los ratones debe extenderse entre los 15 minutos y las 4 horas y los síntomas característicos de rascado aparecen generalmente después de las dos horas.

Varias especies de diatomeas tales como *Chaetoceros concavicornis* y *Ch. convolutus* pueden causar daño en branquias de peces provocando producción excesiva de mucus, irritación, hipoxia y aun anoxia (Rensel 1995). Whyte (1997) cita a ambas especies, a *Corethron criophilum*, a *Skeletonema costatum* y a especies de *Thalassiosira* entre las que producen mortalidad masiva en cultivo de salmónidos en la Columbia Británica. Asimismo especies de *Thalassiosira, Coscinodiscus,* y *Chaetoceros,* formadoras de colonias mucilaginosas, y *Cerataulina,* han sido reportadas como nocivas, taponadoras de branquias de peces o bivalvos en cultivo por Hasle & Fryxell (1995).

HAPTOPHYTA

Las principales características de este grupo de algas pueden resumirse del siguiente modo siguiendo los criterios de Lee (1999), van den Hoeck *et al.* (1995) y Green & Leadbeater (1994):

1.- La mayoría de los miembros del grupo son unicelulares flagelados pudiendo algunas especies presentar estados cocoides, filamentosos, etc.

2.- Las células presentan dos flagelos de inserción anterior o lateral, iguales o desiguales en longitud, lisos (excepto en el caso de *Pavlova*) y un apéndice flageliforme llamado haptonema que puede tener longitud variable o ser rudimentario.

3.- Los cloroplastos tienen una cubierta cloroplástica de cuatro unidades de membrana de las cuales las dos últimas tienen origen en el retículo endoplasmático, las lamelas son tritilacoidales. Los pigmentos son: clorofilas a y c, ß-carotenos y varias xantófilas, la más importante de las cuales es la fucoxantina.

4.- La sustancia de reserva es crisolaminarina extraplastidial y en algunos casos paramilon.

5.- La cubierta celular está constituida por escamas orgánicas (celulósicas) embebidas en una sustancia mucilaginosa y en los cocolitofóridos por escamas calcificadas.

6.- La reproducción asexual es usualmente por fisión longitudinal. La reproducción sexual es poco conocida en el grupo y algunos miembros presentan ciclo de vida digenético haplodiplonte heteromórfico con células flageladas diploides alternantes con filamentos bénticos haploides.

7.- La gran mayoría de los miembros del grupo son de ambientes marinos y sólo unas pocas especies son de agua dulce.

Toxinas producidas por Haptophyta

Aun cuando son numerosas las especies del grupo capaces de producir grandes floraciones sólo unas pocas especies de *Chrysochromulina* y *Prymnesium* son conocidas como productoras de toxinas (Moestrup 1994).

Chrysochromulina polylepis fue responsable de un evento de floración tóxico

ocurrido en aguas de Skagerrak y Kattegat en la primavera de 1988 durante el cual la especie alcanzó concentraciones del orden de 107 - 108 cel l^{-1}. Las pérdidas durante aquel episodio fueron estimadas en 900 t de peces en cautiverio. Junto con la mortalidad de peces los efectos tóxicos alcanzaron a bacterias, fitoplánctcres, zooplánctcres, algas bénticas y fauna de fondo. En 1991 otra especie del género, *Chrysochromulina leadbeateri*, fue la causante de la muerte de 600 t de peces de cultivo sucedida en Noruega (Moestrup & Thomsen 1995).

Las toxinas de *C. polylepis* fueron analizadas por Yasumoto *et al.* (1990), quienes encontraron dos compuestos hemolíticos y dos compuestos ictiotóxicos, el compuesto hemolítico más abundante es un galactolípido. Según Moestrup (1994) las toxinas producen lisis en hepatocitos de rata, interfiere el transporte de los neurotrasmisores a nivel sináptico y afecta la permeabilidad de las membranas. Hallegraeff (1993) señaló que la muerte de los peces se produce por desbalance iónico de la sangre como consecuencia del daño ocasionado por las toxinas en las membranas branquiales.

Bates (1997) asoció un fenómeno de mortandad masiva de salmones en lugares de cría bajo hielo ocurrida en 1996 en Nova Scotia, con la presencia de otra haptofita, *Chrysochromulina birgeri*, pero señaló en el mismo trabajo que hacía falta confirmar la relación.

Otra especie que ha sido mencionada en numerosas oportunidades como productora de floraciones causantes de mortalidad masiva de peces en aguas de baja salinidad de diferentes partes del mundo, es *Prymnesium parvum* (Moestrup & Thomsen 1995). La toxina responsable, a la que se denomina primnesina, más que un único compuesto es una familia de sustancias similares, una de las cuales, la hemolisina 1, es la que se presenta en mayor cantidad y está constituida por una mezcla de dos galactolípidos (Moestrup 1994). La primnesina es citotóxica, hemolítica y neurotóxica y afecta las branquias de peces e invertebrados.

Phaeocystis es un género ampliamente distribuido, cuyas especies son responsables de grandes floraciones, formadoras de espuma jabonosa que obstruye las redes de pesca y se deposita en gruesas capas sobre las playas y productoras de ácido acrílico, un potente antibiótico. Moestrup & Thomsen (1995) señalaron que las especies del género *Phaeocystis* son capaces de formar un compuesto tóxico de naturaleza mal conocida que causa muerte de peces en cultivo.

RAPHIDOPHYTA

Las principales características de este grupo de algas pueden resumirse del siguiente modo siguiendo los criterios de Lee (1999), van den Hoeck *et al.* (1995) y Hallegraeff & Hara (1995):

1.- Todos los miembros del grupo son unicelulares flagelados y desnudos.

2.- Las células presentan dos flagelos insertados subapicalmente en una pequeña depresión. El flagelo anterior es pleuronemático y el posterior acronemático.

3.- Los cloroplastos son numerosos y elipsoidales. Los pigmentos presentes en el grupo son clorofilas a y c, ß-caroteno y varias xantófilas, siendo la fucoxantina la más importante en los representantes marinos.

4.- La sustancia de reserva es crisolaminarina extraplastidial.

5.- Las células presentan organelas eyéctiles, mucocistos y en algunas especies tricocistos.

6.- Algunas especies forman quistes de resistencia durante su ciclo de vida que se acumulan en los sedimentos. Durante la germinación se libera una célula individual móvil a través del opérculo del quiste.

Toxinas producidas por Raphidophyta

Algunas especies de los géneros *Chattonella* y *Heterosigma* han sido señaladas en la literatura como causantes de mortalidad masiva de peces en granjas de cultivo, provocando inmensas pérdidas económicas e importantes perjuicios ambientales. Mencionaremos a modo de ejemplo cifras vinculadas a un episodio que comentan Marshall & Hallegraeff (1999) producido por *Chattonella marina* en 1972 en Japón, las pérdidas ascendieron en ese caso a medio billón de dólares americanos. Igualmente Whyte (1997) citó a *Heterosigma carterae* como una de las especies algales productoras de grandes mortalidades de

salmónidos en la Columbia Británica y causante de grandes pérdidas económicas.

El mecanismo que provoca la muerte de los peces durante floraciones de rafidofitas es todavía pobremente conocido. Hallegraeff *et al.* (1998) mencionan que especies de *Chattonella* son productoras de ácidos grasos que destruyen el tejido de las branquias de peces y que también producen neurotoxinas, similares a la brevetoxina característicamente producida por *Gymnodinium breve.* Este compuesto es una ictiotoxina y produce desórdenes cardíacos de origen neurotóxico en peces expuestos a *Chattonella marina.*

LITERATURA CITADA

Balech, E. 1988. Los Dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Publicaciones Especiales del Instituto Español de Oceanografía 1. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, 310 pp.

Bates, S.S. 1997. Toxic phytoplankton on the Canadian east coast: implications for aquaculture. *Bull. Aquac. Assoc. Canada,* 97 (3): 9-18.

Bates, S.S., C.J. Bird, A.S.W. De Freitas, R. Foxall, M. Gilgan, L.A. Hanic, G.R. Johnson, A.W. Mcculloch, P. Odense, R. Pocklington, M.A. Quilliam, P.G. Sim, J.C. Smith, D.V. Subba Rao, E.C.D. Tood, J.A. Walter & J.L.C. Wright 1989. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, *Canada. Can. J. Fish. Aquat.* Sci, 46: 1203-1215.

Buck, K.R.L., L. Uttal-Cooke, C. H. Pilskaln, D.L. Roelke, M.C. Villac, G.A. Fryxell, L. Cifuentes & F.P. Chávez 1992. Autoecology of the diatom *Pseudonitzschia australis,* a domoic acid producer, from Monterrey Bay, California. *Mar. Ecol. Prog.* Ser., 84: 293-302.

Cembella, A.D., L. Milenkovic, G. Doucette & M. Fernández 1995. *In vitro* biochemical methods and mammalian bioassays for phycotoxins. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual on harmful marine microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 177-179.

Cortés Altamirano, R. 1998. *Las mareas rojas.* RGT Editor S.A., México, 161 pp.

Egmond van, H.P., H.J. van den Top & G.J.A. Speijers 1991. Worldwide regulations for marine phycotoxins. *In:* Frémy, J.M. (Ed.) *Proceedings of Symposium on Marine Biotoxins.* CNEVA Publishers, Maisons-Alfort: 167-172.

Fernández, M.L. 1998. Phycotoxins: regulatory limits and effects on trade. *In:* Miraglia, M., H. van Egmond, C. Brera, J. Gilbert (Eds). *Mycotoxins and Phycotoxins Developments in Chemistry, Toxicoloy and Food Safety.* USA: 503-515.

Fernández, M.L. & A.D. Cembella 1995. Mammalian bioassays. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual on harmful marine microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 213-228.

Ferrario, M.E., E.A. Sar & S.E. Sala (en prensa). Diatomeas toxígenas. *In:* Sar, E.A.; M.E. Ferrario & B. Reguera. *Microalgas marinas productoras de toxinas presentes en el cono Sur Americano.* Instituto Español de Oceanografía- COI.

Glaziou, P. & A.M. Legrand 1994. The epidemiology of Ciguatera Fish Poisoning. *Toxicom* 32 (8): 863-873.

Green, J.C. & B.S.C. Leadbeater 1994. *The Haptophyte algae.* Systematics Association by Claredon Press, Oxford.

Hallegraeff, G.M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia,* 32 (2): 79-99.

Hallegraeff, G.M. 1995. Harmful algal booms: a global overview. *In*: Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 1-22.

Hallegraeff, G.M. & Y. Hara 1995. Taxonomy of harmful marine Raphidophytes. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 365-371.

Hallegraeff, G.M., B.L. Munday, D.G. Baden & P.L. Whitney 1998. *Chattonella marina* (Raphidophyte) bloom associated with mortality of cultured bluefin tuna *(Thunnus maccoyii)* in South Australia. *In:* Reguera, B., J. Blanco, M.L. Fernández & T. Wyatt (Eds.). Harmful algae. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO, Santiago de Compostela: 93-96.

Hasle, G.R. & G.A. Fryxell 1995. Taxonomy of Diatoms. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 339-364.

Hoeck van den, C., D.G. Mann & H.M. Jahns 1995. *Algae.* An introduction to phycology. Cambridge University Press, Cambridge, 623 pp.

Ishida, H., N. Muramatsu, T. Kosuge & K.Tsuji 1996. Study on Neurotoxic Shellfish Poisoning involving New Zealand shellfish, Crassostrea gigas. *In:* Yasumoto, T., Y. Oshima & Y. Fukuyo (Eds.). *Harmful and Toxic Algal Blooms.* IOC of UNESCO, Japan: 491-494.

Landsberg, J.H. & K.A. Steidinger 1998. A historical review of *Gymnodinium breve* red tides implicated in mass mortalities of the manatee *(Trichechus manatus latirostris)* in Florida, USA. *In:* Reguera, B.; J. Blanco; M.L. Fernández & T. Wyatt (Eds.). *Harmful algae.* Xunta de Galicia y IOC of UNESCO, Santiago de Compostela: 97-100.

Lee, R.E. 1999. *Phycology.* Cambridge University Press, Cambridge, 614 pp.

Legrand, A.M. 1998. Ciguatera toxins: origin, transfer through the food chain and toxicity to humans. *In:* Reguera, B., J. Blanco, M.L. Fernández & T. Wyatt (Eds.). *Harmful algae.* Xunta de Galicia y IOC of UNESCO, Santiago de Compostela: 39-43.

Lundholm, N., J. Skov, R. Pocklington & Ø. Moestrup 1994. Domoic acid, the toxic amino acid responsible for amnesic shellfish poisoning, now in P*seudonitzschia seriata* (Bacillariophyceae) in Europe. *Phycologia,* 33(6): 475-478.

Maranda, L., R. Wang, K. Masuda & Y. Shimizu 1990. Investigation of the source of domoic acid in mussels. *In:* Graneli, E., B. Sundstrom, L. Edler & D. M. Anderson (Eds.). *Toxic Marine Phytoplankton.* Elsevier, New York: 300-304.

Marshall, J.A. & G.M. Hallegraeff 1999. Comparative ecophysiology of the harmful alga *Chattonella marina* (Raphidophyceae) from South Australian and Japanes waters. *J. Plank. Res.,* 21 (10): 1809-1822.

Martin, J.L., K. Haya, L.E. Burridge & D.J. Wildish. 1990. *Nitzschia pseudodelicatissima.* A source of domoic acid in the Bay of Fundy, eastern Canada. *Mar. Ecol. Progr. Ser.,* 67: 177-182.

Moestrup, Ø. 1994. Economic aspects: "blooms", nuisance species, and toxins. *In:* Green, J.C. & B.S.C. Leadbeater (Eds.). *The Haptophyte algae.* Systematics Association by Claredon Press, Oxford: 265-285.

Moestrup, Ø. & H.A. Thomsen 1995. Taxonomy of toxic Haptophytes (Prymnesiophytes). *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 319-338.

Montoya, N.G., M.I. Reyero, R. Akselman, J.M. Franco & J.I. Carreto 1998. Paralytic shellfish toxins in the anchovy *Engraulis anchoita* from the Argentinian coast. *In:* Reguera, B., J. Blanco, M.L. Fernández & T. Wyatt (Eds.). *Harmful algae.* Xunta de Galicia y IOC of UNESCO, Santiago de Compostela: 72-73.

Pocklington, R., J.E. Milley, S.S. Bates, C.J. Bird, A.S.W. de Freitas & M.A. Quilliam 1989. Trace determination of domoic acid in seawater and phytoplankton by high-performance liquid chromatography of the fluorenylmethoxicarbonyl (FMOC) derivative. Intern. *J. European Anal. Chem.,* 38: 351-368.

Ravn, H. 1995. Amnesic Shellfish Poisoning (ASP).HAB Publication Series. *IOC Manuals and Guides,* 31 (1), 15 pp.

Rensel, J. 1995. Management of finfish aquaculture resources. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 463-474.

Rhodes, L., D. White, M. Syhre & M. Atkinson 1996. *Pseudo-nitzschia* species isolated from New Zealand coastal waters: domoic acid production *in vitro* and links with shellfish toxicity. *In:* Yasumoto, T., Y. Oshima & Y. Fukuyo (Eds.). *Harmful and Toxic Algal Blooms.* IOC of UNESCO, Japan: 155-158.

Rhodes, L., C. Scholin, I. Garthwaite, A. Haywood & A. Thomas 1998. Domoic acid producing *Pseudo-nitzschia* species educed by whole cell DNA probe-based and immunochemical assays. *In:* Reguera, B., J. Blanco, M.L. Fernández & T. Wyatt (Eds.). *Harmful algae.* Xunta de Galicia y IOC of UNESCO, Santiago de Compostela: 274-277.

Round, F.E., R.M. Crawford & D.G. Mann 1990. *The Diatoms.* Biology and morphology of the genera. Cambridge University Press, Cambridge, 747 pp.

Ruff, T.A. & R.J. Lewis 1994. Clinical aspect of Ciguatera: an overview. *Memoirs of the Queensland Museum,* 34 (3): 609-619.

Sar, E.A. 1999. Diatomeas toxígenas. Morfología, distribución y nomenclatura de las especies presentes en Argentina. Notas Botánicas, Sociedad Argentina de Botánica: 8-12.

Scholin, C., F. Gulland, G.J. Doucette, S. Benson, M. Busman, F.P. Chávez, J. Cordaro, R. DeLong, A. De Vogelaere, J. Harvey, M. Haulena, K. Lefebvre, T. Lipscomb, S. Loscutoff, L.J. Lowenstine, R. Marin, P.E. Miller, W.A. McLellan, P.D.R. Moeller, C.L. Powell, T. Rowles, P. Silvagni, M. Silver, T. Spraker, V. Trainer, & F.M. Van Dolah 2000. Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom. *Nature,* 403: 80-83.

Shimizu, Y., S. Gupta, K. Masuda, L. Maranda, C.K. Walker & R. Wang 1989. Dinoflagellates and other microalgal toxins: chemistry and biochemistry. *Pure Appl. Chem.,* 61: 513-516.

Shumway, S.E., H.P. von Egmond, J.W. Hurst & L.L. Bean 1995. Management of shellfish resources. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 433-461.

Smith, J.C., K. Pauley, P. Cormier, R. Angus, P. Odense, D. O'Neil, M.A. Quilliam & J. Worms 1991. Population dynamics and toxicity of various species of *Dinophysis and Nitzschia* from the Southern Gulf of St. Lawrence. *In:* Gordon, D.C. (Ed.). Proceeding of the Second Canadian Workshop on Harmful Marine Algae. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquatic Sci.* 1799: 25.

Takemoto, T. & K. Daigo 1958. Constituents of *Chondria armata. Chem. Pharm. Bull.,* 6: 578-580.

Taylor, F.J.R., Y. Fukuyo & J. Larsen 1995. Taxonomy of harmful Dinoflagellates. *In:* Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (Eds.). *Manual of Harmful Marine Microalgae.* IOC Manuals and Guides 33. UNESCO, París: 283-317.

Todd, E.C.D. 1990. Amnesic Shellfish Poisoning - a new seafood toxin syndrome. *In:* Graneli, B. Sundström, L. Edler & D.M. Anderson (Eds.). *Toxic Marine Phytoplankton.* Elsevier Scientific Publishing Co., New York: 504-508.

Whyte, J.N.C. 1997. Impacts of harmful algae on the west-coast aquaculture industry and a National Research Plan by the Phycotoxins Working Group of Fisheries and Ocean Canada to address such issues. *Bull. Aquac. Assoc. Canada* 97 (3): 19-25.

Yasumoto, T., B. Underdal, T. Aune, V. Hormazábal, O. Skulberg & Y. Oshima 1990. Screening for hemolytic and ichthyotoxic components of *Chrysochromulina polylepis and Gyrodinium aureolum* from Norwegian coastal waters. *In:* Graneli, E., B. Sundström, L. Edler & D.M. Anderson (Eds.). *Toxic Marine Phytoplankton.* Elsevier, New York: 436-440.