

MONITOREO DE MICROALGAS NOCIVAS Y MONITOREO DE FICOTOXINAS EN MOLUSCOS EN LA COSTA BONAERENSE

Monitoring of harmful microalgae and monitoring of phycotoxins in molluscs in the coast of Buenos Aires

Tardivo Kubis, Jonás A.¹; Lavigne, Andrea S.^{1,2}; Aguiar Juárez, Delfina¹; Risso, Antonella¹; Sar, Eugenia^{1,3}; Sunesen, Inés^{1,3}

¹División Ficología Dr. Sebastián Guarrera, FCNyM, UNLP. ²Dirección Provincial de Pesca, Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires. ³CONICET
isunesen@fcnym.unlp.edu.ar; jtardivokubis@fcnym.unlp.edu.ar

Palabras clave: microalgas nocivas, costa bonaerense, PSP, DSP.

Resumen

Nuestro grupo de trabajo ejecuta desde 2008 un monitoreo de microalgas y monitoreo de toxinas en moluscos de ambientes costeros bonaerenses, en conjunto con la Dirección Provincial de Pesca (DPP) del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires y el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). El objetivo del proyecto es detectar tempranamente especies de microalgas nocivas tóxicas o no tóxicas capaces de producir efectos adversos para la salud humana, el medioambiente, la acuicultura y las actividades recreativas en zonas costeras y detectar toxinas en moluscos. Durante el período hemos determinado toxinas PSP asociadas a la presencia en el agua de las microalgas *Alexandrium catenella* y *Gymnodinium catenatum* y toxinas DSP asociadas a las microalgas *Dinophysis acuminata* y *D. caudata*. La información de estos eventos fue transferida a la DPP, encargada de imponer vedas a la extracción y consumo de moluscos en áreas costeras.

Abstract

Since 2008, our work group has been monitoring microalgae and monitoring toxins in molluscs of coastal areas of Buenos Aires, in conjunction with the Dirección Provincial de Pesca (DPP) of the Ministerio de Agroindustria of the Province of Buenos Aires and the Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). The objective of the project is to detect early harmful toxigenic or non-toxigenic microalgae species capable of producing adverse effects on human health, the environment, aquaculture and recreational activities in coastal areas and detect toxins in molluscs. During the period we have determined PSP toxins associated with the presence in the water of the microalgae *Alexandrium catenella* and *Gymnodinium catenatum* and DSP toxins associated with the presence of the microalgae *Dinophysis acuminata* and *D. caudata*. The information of these events was transferred to the DPP, responsible for imposing closures on the extraction and consumption of molluscs in coastal areas.

Introducción

Las microalgas son los principales productores primarios en ambientes marinos. Algunas especies pueden provocar daños a la acuicultura por producir de ictiotoxinas, efectos mecánicos deletéreos o anoxia en la columna de agua debido al aumento de su biomasa generalmente visible como floraciones intensas. Otras microalgas pueden ser nocivas para los seres humanos, otros mamíferos y aves, dado que, aún en concentraciones bajas o moderadas, transmiten sus toxinas a través de vectores como moluscos bivalvos, moluscos gasterópodos y peces, que les sirven de alimento. Las toxinas de mayor relevancia para la salud pública son toxina paralizante de moluscos (PSP), toxina diarreica de moluscos (DSP), azaspirácidos (AZP) y toxina neurotóxica de moluscos (NSP) producidas por dinoflagelados, y toxina amnésica de moluscos (ASP) producidas por diatomeas. Todas ellas pueden causar intoxicaciones alimentarias por ingestión de moluscos, provocando al hombre cuadros de variable gravedad (Reguera 2002). En los moluscos la presencia de las toxinas no tiene efectos significativos ni altera sus características organolépticas (sabor, color, olor, aspecto).

En la zona marítima norte de la Provincia de Buenos Aires, en donde hay bancos naturales de moluscos, y en la zona marítima sur, en donde además se realizan cultivos y extracción de ostras de banco a escala comercial, hemos detectado varias especies de microalgas que aún

en concentraciones bajas o moderadas, son capaces de transmitir sus toxinas a diferentes componentes de la cadena trófica, principalmente a través de moluscos bivalvos filtradores (Sar *et al.*, 2010, 2012; Sunesen *et al.*, 2014).

Desde marzo de 2008 nuestro grupo de trabajo ejecuta un monitoreo de microalgas y monitoreo de toxinas en moluscos de ambientes costeros bonaerenses, en conjunto con la Dirección Provincial de Pesca del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires y SENASA. El objetivo es identificar microalgas nocivas tóxicas y no tóxicas, determinando su distribución temporal y espacial, las condiciones ambientales en las que aparecen, la concentración de toxinas en moluscos a los que se encuentran eventualmente asociadas y su perfil toxicológico. Esto permite establecer relaciones entre las floraciones detectadas y episodios de toxicidad en moluscos, episodios de mortandad masiva de fauna marina, o episodios de floraciones que afecten actividades costeras recreativas.

Materiales y métodos

Las muestras de fitoplancton son colectadas en nueve estaciones desde San Clemente del Tuyú hasta Bahía San Blas, con frecuencia mensual de mayo a septiembre y quincenal de octubre a abril. Una alícuota sin fijar se utiliza para aislar especímenes y establecer cultivos con el fin de facilitar la correcta identificación de las especies a través de su caracterización molecular y morfológica. Muestras de moluscos filtradores disponibles en las mismas áreas costeras son enviadas a SENASA para la realización de los análisis de toxinas. Los moluscos colectados son almeja amarilla (*Mesodesma mactroides*) o berberecho (*Donax hanleyanus*) de la arena en el intermareal, mejillines (*Brachidontes rodriguezii*) de pilotes de muelles, ostras (*Crassostrea gigas*) de bancos costeros o caracol (*Zidona dufresnei*) de fondos arenosos de aguas profundas, los dos últimos en zonas marítimas provinciales de explotación comercial.

Las muestras y cepas de microalgas son analizadas para su identificación mediante microscopio óptico con campo claro, con contraste de fases, con contraste diferencial de interferencia y/o con epifluorescencia mediante tinción con calcofluor para observar tecas de dinoflagelados y con microscopio electrónico de barrido. Las muestras cuantitativas son analizadas con microscopio invertido siguiendo la técnica de Utermöhl. Las muestras de ADN para realizar la caracterización molecular, son obtenidas de pellets de cultivos celulares o de células individuales a fin de amplificar por PCR una fracción del gen LSU rDNA (regiones D1-D2). Las secuencias obtenidas son comparadas con las disponibles en GenBank usando para ello el algoritmo Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Los análisis de toxinas en carne de moluscos se realizan en laboratorios de toxinas marinas de SENASA, por bioensayo ratón según AOAC (2005) para PSP y Fernández *et al.* (2002) para DSP, y por Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) para ASP.

Resultados

Desde el inicio del monitoreo hemos detectado floraciones de microalgas nocivas tóxicas y no tóxicas, de diversos grupos algales: dinoflagelados, diatomeas y rafdofíceas. Dinoflagelados productores de toxinas paralizantes (PSP)

Gymnodinium catenatum fue la especie asociada a la detección de toxinas PSP en berberechos en Villa Gesell y Mar Azul, hallada en concentraciones que oscilaron entre 10^3 y 10^4 cél.L⁻¹ en el fitoplancton, en los meses de febrero y marzo de 2008 y 2009. Esos episodios dieron lugar a la Resolución 2/08 de la Subsecretaría de Asuntos Agrarios y la Resolución 7/09 del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires mediante las que se impusieron vedas al consumo de moluscos bivalvos provenientes de la costa bonaerense (Sunesen *et al.* 2014).

Alexandrium tamarense, fue la especie hallada en concentraciones críticas del orden de 10^4 cél.L⁻¹ y asociada a la toxicidad determinada en el caracol *Zidona dufresnei* extraído de zonas de explotación comercial entre Mar del Plata y Necochea. Entre los años 2015 y 2017 estos episodios de toxicidad dieron lugar a la Disposición 23/15 de la Dirección de Desarrollo Marítimo y Fluvial, la Disposición 15/15 de la Dirección Provincial de Pesca (DPP), la Resolución 26/16 del Ministerio de Agroindustria, y la Disposición DI-2017-15-E-GDEBA-DAPYAMAGP. *A. tamarense* fue asociada a los episodios de toxicidad en el Mar Argentino frente a la Provincia de Chubut desde 1980. A partir del aislamiento y cultivo de esta especie y de su estudio morfológico y molecular se determinó que la especie de *Alexandrium* del complejo *tamarense* involucrada en episodios de toxicidad PSP, es *Alexandrium catenella*.

Especies productoras de toxinas diarreicas por moluscos (DSP)

Dinophysis acuminata, *D. caudata* y *D. tripos* son las especies de *Dinophysis* más frecuentemente halladas en el fitoplancton de la costa bonaerense. De ellas las dos primeras han sido asociadas a episodios de toxicidad DSP en moluscos colectados desde San Clemente hasta Mar Azul en concentraciones de $10^3 / 10^4$ cél.L⁻¹. Estos episodios dieron lugar al establecimiento de vedas a la extracción y consumo de moluscos bivalvos para garantizar la protección de la salud humana de la población en 2010 y 2012, a través de la Disposición 13/10 DPP, la Disposición 8/12 DPP y la Resolución 17/12 del Ministerio de Asuntos Agrarios. La veda impuesta en 2012, sigue en vigencia debido a que no ha habido dos análisis negativos consecutivos que justifiquen su levantamiento. El primer episodio registrado en Argentina de intoxicación de turistas por DSP relacionado al consumo de berberechos contaminados se produjo en la localidad de Mar Azul, en enero de 2010 (Sar *et al.*, 2010, 2012; Goya *et al.* 2012).

Especies productoras de ictiotoxinas

Chattonella marina, es una rafdoficea que ha sido asociada a mortalidades masivas en distintas partes del mundo aún en bajas concentraciones celulares, 500 cél.L⁻¹. Esta especie fue hallada en el área a partir de comienzos del 2015, en todos los muestreos, en concentraciones del orden de $10^3 / 10^4$ cél.L⁻¹ durante el episodio de mortandad masiva de peces de la especie *Brevoortia aurea* (saracas) sucedida en el área costera entre Samborombón y Mar Azul, República Argentina y en el área costera de los Departamentos de Canelones y Montevideo, República Oriental del Uruguay.

Especies productoras de floraciones nocivas no tóxicas

Entre las diatomeas, una de las especies que ha producido floraciones recurrentes en la costa bonaerense es *Asterionellopsis glacialis*. La especie fue registrada en concentraciones de 10^8 cél.L⁻¹, formando espuma y manchas marrones en la superficie del agua y sobre la arena de la costa, que provocaron alarma social en los meses de mayor afluencia turística en los partidos de La Costa, Pinamar y Villa Gesell.

En el área de Bahía Anegada, desde el año 2009 a 2013, se produjeron once análisis positivos para toxinas lipofílicas en *Crassostrea gigas* durante los meses de primavera y verano dando lugar al establecimiento de cuatro alertas y seis vedas a la extracción y consumo de ostras. En el fitoplancton no aparecieron microalgas productoras de DSP y por el tiempo de supervivencia de los ratones, el comportamiento observado y la signología presentada, las toxinas asociadas en estos casos podrían haber sido iminas cíclicas, "fast acting toxins", que no están actualmente reguladas (Sunesen *et al.*, 2014).

Especies tóxicas presentes en la costa bonaerense que no fueron asociadas a episodios de toxicidad durante el periodo del monitoreo: *Pseudo-nitzschia australis*, *P. pungens* y *P. multiseriata*, (productoras de ASP); *Azadinium* spp. (productoras de AZP), *Prorocentrum texanum* (productora de DSP), *Heterosigma akashiwo*, *Fibrocapsa japonica*, (productoras de ictiotoxinas).

Conclusiones

En aguas costeras de la Provincia de Buenos Aires han sido reportados brotes de toxinas PSP asociados a la presencia en el fitoplancton de *Alexandrium tamarense* (Carreto *et al.*, 1998 a y b; Sunesen *et al.*, 2014) y de *Gymnodinium catenatum* (Akselman *et al.*, 1998; Sunesen *et al.*, 2014), brotes de toxinas DSP asociados a la presencia en el fitoplancton de *Dinophysis acuminata* y *D. caudata* (Sar *et al.*, 2010, 2012; Goya *et al.*, 2012; Sunesen *et al.*, 2014) y brotes de toxinas ASP asociados a la presencia en el fitoplancton de *Pseudo-nitzschia australis* (Negri *et al.*, 2004). Sin embargo, algunos episodios de toxicidad por toxinas lipofílicas en moluscos del área de Bahía Anegada no han podido ser explicados hasta el presente y requieren de futuros estudios.

Entre el 2014 y la actualidad han sido detectadas varias especies de microalgas asociadas a la producción de toxicidad en moluscos en concordancia con lo establecido por Sunesen *et al.* (2014).

La información sobre la morfología ultraestructural, los parámetros morfométricos, el perfil toxicológico y la filogenia de las especies tóxicas detectadas y de otras encontradas en otras áreas geográficas del país, es bastante fragmentaria y la identificación de complejos de especies se mantiene pendiente de resolución aún a nivel mundial. Por ello, esta etapa del proyecto monitoreo está enfocada a la caracterización de especies productoras de floraciones

algales nocivas (FAN) que puedan ser aisladas y en la comparación con cepas de otras áreas geográficas sobre la base del análisis de su perfil de toxinas y de su variabilidad morfológica y genética.

Bibliografía

AKSELMAN R., J. I. CARRETO y G. N. MONTOYA. 1998. "*Gymnodinium catenatum* and autumn toxicity in Northern shelf waters of Argentina". En: REGUERA, BLANCO, FERNÁNDEZ y WYATT (eds.) *Harmful Algae*. 122–123. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia and IOC UNESCO.

AOAC. 2005. "Official method 959.08: Paralytic shellfish poison. Biological method. Final action". En: TRUCKSES. AOAC Official methods for analysis. 18th edition. Natural toxins, 79–80. Gaithersburg: AOAC International.

CARRETO J. I., R. AKSELMAN, N. G. MONTOYA, R. M. NEGRI, H. R. BENAVIDES, M. O. CARRIGNAN y A. D. CUCCHI COLLEONI. 1998a. "*Alexandrium tamarense* bloom dynamics and *Mytilus edulis* toxicity in the coastal waters off Mar del Plata (Argentina)". En: REGUERA, BLANCO, FERNÁNDEZ y WYATT (eds.) *Harmful Microalgae*, 135–138. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia and IOC UNESCO.

CARRETO J. I., N. G. MONTOYA, A. D. CUCCHI COLLEONI y R. AKSELMAN. 1998b. "*Alexandrium tamarense* blooms and shellfish toxicity in the Argentine Sea: a retrospective view". En: REGUERA, BLANCO, FERNÁNDEZ y WYATT (eds.) *Harmful Microalgae*, 131–134. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia and IOC UNESCO.

GOYA A., E. SANGORRÍN, A. LAVIGNE, I. SUNESEN, S. LOFEUDO y E. SAR. 2012. "Toxinas diarreicas de los moluscos: primer reporte de intoxicación alimentaria en la Provincia de Buenos Aires". *Revista del Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires. Suplemento Técnico Veterinario* 50: 48–49. La Plata: Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires.

FERNÁNDEZ M. L., A. MÍGUEZ, E. CACHO, A. MARTÍNEZ, J. DIOGÉNE y T. YASUMOTO. 2002. "Bioensayos con mamíferos y ensayos bioquímicos y celulares para la detección de ficotoxinas". En: SAR, FERRARIO y REGUERA (eds.) *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano*, 79–120. Madrid: Instituto Español de Oceanografía.

NEGRI R. M., N. MONTOYA, J. I. CARRETO, R. AKSELMAN y D. INZA. 2004. "*Pseudo-nitzschia australis*, *Mytilus edulis*, *Engraulis anchoita* and domoic acid in the Argentine Sea". *Proceedings Xth Conference, Harmful Algal Blooms*, 139–141. St Petersburg Beach, Florida: IOC UNESCO.

REGUERA B. 2002. "Establecimiento de un programa de seguimiento de microalgas tóxicas". En: SAR, FERRARIO y REGUERA (eds.) *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano*, 21–54. Madrid: Instituto Español de Oceanografía.

SAR E. A., I. SUNESEN, A. B. GOYA, A. S. LAVIGNE, C. GARCÍA y N. LAGOS. 2012. "First report of Diarrhetic Shellfish Toxins in mollusks from Buenos Aires Province (Argentina) associated to *Dinophysis* spp.: Evidence of Okadaic acid, Dinophysistoxin-1 and Acyl-derivatives". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 47 (1–2): 5–14. Córdoba: Sociedad Argentina de Botánica.

SAR E. A., I. SUNESEN, A. S. LAVIGNE y A. B. Goya. 2010. "*Dinophysis* spp. asociadas a detección de toxinas diarreicas en moluscos (DSTs) y a intoxicación diarreica en humanos (Provincia de Buenos Aires, Argentina)". *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 45 (3): 451–460. Valparaíso: Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales.

SUNESEN I., A. S. LAVIGNE, A. B. GOYA y E. A. SAR. 2014. "Episodios de toxicidad en moluscos de aguas marinas costeras de la Provincia de Buenos Aires (Argentina) asociados a algas toxígenas (Marzo de 2008 - Marzo de 2013)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 49 (3): 327–339. Córdoba: Sociedad Argentina de Botánica.