

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



TASAS DE CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE LA MICROALGA
Alexandrium catenella (Dinoflagellata) **A DIFERENTES CONCENTRACIONES**
DE NITRATOS Y FOSFATOS

Cristián Ricardo Garrido Cáceres

Director de tesis: Dr. Máximo Frangópulos Rivera

Co-director de tesis: M.Sc Iván Cañete Aguilera

2009

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



TASAS DE CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE LA MICROALGA
Alexandrium catenella (Dinoflagellata) **A DIFERENTES CONCENTRACIONES**
DE NITRATOS Y FOSFATOS

Cristián Ricardo Garrido Cáceres

Director de tesis : Dr. Máximo Frangópulos Rivera

Co-director de tesis: M.Sc Iván Cañete Aguilera

2009

**TASAS DE CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE LA MICROALGA *Alexandrium*
catenella (Dinoflagellata) A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE
NITRATOS Y FOSFATOS**

Por: Cristián Ricardo Garrido Cáceres

Departamento de Ciencias y Recursos Naturales

Fecha: 23 de Diciembre 2009

Aprobado Comisión de Calificación

Decano

Tesis entregada como un requerimiento para obtener el título
de Biólogo Marino en la Facultad de Ciencias

2009

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES
FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento de Ciencias y Recursos Naturales

**TASAS DE CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE LA MICROALGA *Alexandrium*
catenella (Dinoflagellata) A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE
NITRATOS Y FOSFATOS**

Tesis presentada para optar al Título de Biólogo Marino

Cristián Ricardo Garrido Cáceres

Punta Arenas, Diciembre 2009

Resumen

Las FAN son un problema de importancia social (intoxicaciones) y científica.

Las microalgas que proliferan dando origen a estos crecimientos explosivos pueden generar toxinas nocivas para el ser humano y para otros organismos de la cadena trófica. En la región de Magallanes se han registrado 4 grandes florecimientos correspondientes a los años 1972, 1981, 1982 y 1991, producidos por el dinoflagelado *Alexandrium catenella*, cuya toxicidad se incrementa cuando se encuentra en grandes concentraciones.

Los cultivos de laboratorio de especies fitoplanctónicas tóxicas constituyen una herramienta para los científicos, cuya finalidad es simular las condiciones ambientales de estos organismos fitoplanctónicos. Esta simulación nos permite comprender de mejor manera el comportamiento de los dinoflagelados bajo ciertas condiciones, entregando una idea aproximada de como este organismo se comportaría en similares condiciones en la naturaleza.

Este estudio tiene como objetivo, analizar en condiciones de laboratorio el crecimiento y toxicidad de *Alexandrium catenella* a diferentes concentraciones de nitratos y fosfatos, para poner a prueba la siguiente **hipótesis**: Si el crecimiento y toxicidad de *Alexandrium catenella* en condiciones de laboratorio no varían a distintas concentraciones de nitratos y fosfatos, entonces uno o ambos macronutrientes no son factores limitantes en el crecimiento y biosíntesis de toxinas, mientras que como **hipótesis alternativa** se tiene que, Si el crecimiento y toxicidad de *Alexandrium catenella* en condiciones de laboratorio varía a distintas concentraciones de nitratos y fosfatos, entonces la concentración de uno o ambos macronutrientes son factores limitantes en el crecimiento y/o biosíntesis de toxinas.

Para lograr este objetivo se estudió la reacción de esta microalga a diferentes concentraciones de N:P, utilizando curvas de crecimiento y determinando su toxicidad a través de HPLC.

Posteriormente los resultados obtenidos se analizaron en programas estadísticos para determinar si existe alguna relación entre la cantidad de nutrientes, el crecimiento y la toxicidad.

Se encontró que *A. catenella* en condiciones de N>P presenta el crecimiento mas rápido (0.49 μ), pero la máxima abundancia se registró en el tratamiento N:P (5266 cél ml⁻¹), mientras que la menor abundancia en el tratamiento N<P (4072 cél ml⁻¹).

En cuanto al contenido tóxico *A.catenella* en condiciones de N<P presentó la mayor cantidad de toxinas (100,52 fmol célula⁻¹), mientras que los tratamientos N>P y N:P presentaron valores de 86,22 y 83,40 fmol célula⁻¹ respectivamente.

Estos resultados sugieren de manera preliminar que el nitrato y el fosfato, poseen un efecto no sinérgico en el crecimiento y toxicidad en esta microalga bajo estas condiciones de cultivo, lo que se traduce en una estimulación y limitación del crecimiento por parte del nitrato (N>P y N<P), y un aumento de toxinas en situaciones de limitación de fosfato.

Palabras clave: dinoflagelados, FAN, nutrientes, toxinas, crecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Han pasado ya 6 años desde que entré a la universidad como un alumno para llegar a este momento y finalmente egresar como un profesional, el camino ha sido un poco largo, pero todo valió la pena. He conocido muchas personas con las que compartí en este tiempo y con las que tengo muy buenos recuerdos.

Para el desarrollo de este gran trabajo llamado tesis de grado, he recibido la ayuda de muchas personas, hacia las cuales quiero expresar toda mi gratitud y les agradezco toda la ayudada brindada.

En primer lugar quiero agradecer a toda mi familia especialmente a mis padres y hermana por el apoyo incondicional en todos estos años de estudio, y espero poder retribuirlos de alguna manera, gracias por todo.

La persona que hizo posible esta tesis de grado es el Dr. Máximo Frangópulos, le agradezco toda la paciencia y sus enseñanzas, particularmente su disponibilidad para recibir mis llamados las 24 horas del día. No podría haber encontrado un mejor tutor y una mejor persona. Muchas gracias. También al profesor Iván Cañete por estar siempre preocupado y por todos los valiosos aportes con lo que se complemento este proyecto.

El lugar donde se desarrolló esta tesis y donde también realicé mi práctica profesional fue el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), les agradezco de sobremanera la buena disposición, paciencia y recibirme como uno mas de la familia IFOP y por toda su ayuda prestada, muchas gracias a Eric Daza, Claudia Zamora, Gemita Pizarro, Hernán Pacheco y César Alarcón.

También quiero agradecer a mis compañeros que pasaron a ser amigos y que en el futuro seremos colegas, desarrollamos muy buenos vínculos y espero que los sigamos cultivando. Especialmente a Tania Figueroa, Carolina Toro, Johanna Marambio, Pamela González, Rocío Urtubia, Sebastián Ruiz y Marco Pinto.

Como no mencionar a los profesores de esta universidad que nos enseñan y nos ayudan en esta travesía, gracias especiales a María Luisa Salmerón, Bibiana Jara, Silvia Oyarzún e Iván Cañete.

De manera especial valoro la ayuda de Cristián Ulloa, por las incontables clases de matemáticas, mientras fui alumno. Muchas gracias.

Finalmente pero no menos importante a Claudia Calbucoy por los trámites en la facultad, también a Juan Carlos Soto y Juan Carlos Barrientos por la ayuda en el laboratorio en el transcurso de la carrera.

Gracias a todos.

ÍNDICE	Página
1. INTRODUCCIÓN	-5-
1.1 Antecedentes generales sobre microalgas y fitoplancton	-5-
1.2 FAN, significado, causas, consecuencias y tratamientos	-6-
1.3 Fitoplancton tóxico y los tipos de venenos asociados a las FAN	-7-
1.4 Distribución histórica y actual de las FAN en el mundo	-9-
1.5 FAN en Chile	-10-
1.6 Evolución temporal de las FAN en Magallanes	-11-
1.7 El dinoflagelado <i>Alexandrium catenella</i>	-16-
1.7.1 Factores que afectan la toxicidad y crecimiento de <i>A. catenella</i>	-18-
1.7.2 Toxinas en el género <i>Alexandrium</i>	-20-
1.8 Planteamiento del problema y justificación del estudio	-21-
2. OBJETIVOS	-22-
2.1 Objetivo general	-22-
2.2 Objetivos específicos	-22-
3. HIPÓTESIS DE TRABAJO	-22-
4. MATERIALES Y MÉTODOS	-23-
4.1 Obtención de la cepa	-23-
4.2 Medio de cultivo	-23-
4.3 Fases de cultivo y crecimiento de <i>A. catenella</i>	-25-
4.4 Análisis de toxicidad	-26-
4.5 Preparación de las concentraciones de N:P	-28-
4.6 Diseño experimental	-29-
4.7 Análisis estadísticos	-29-

5.	RESULTADOS	-30-
	5.1 Concentración N>P	-30-
	5.1.1 Abundancias y tasas de crecimiento	-30-
	5.1.2 Toxicidad	-31-
	5.1.3 Relación entre tasa crecimiento y toxicidad	-34-
	5.2 Concentración N:P	-35-
	5.2.1 Abundancias y tasas de crecimiento	-35-
	5.2.2 Toxicidad	-36-
	5.2.3 Relación entre tasa crecimiento y toxicidad	-38-
	5.3 Concentración N<P	-39-
	5.3.1 Abundancias y tasas de crecimiento	-39-
	5.3.2 Toxicidad	-40-
	5.3.3 Relación entre tasa crecimiento y toxicidad	-42-
	5.4 Tasa crecimiento, div/día, abundancias, toxicidad total y GTX5	-43-
	5.4.1 Abundancias y tasas de crecimiento	-43-
	5.4.2 Toxicidades	-45-
	5.4.3 Divisiones por día	-47-
6.	DISCUSIÓN	-48-
7.	CONCLUSIONES	-54-
8.	BIBLIOGRAFÍA	-55-

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	Casos de intoxicación y casos fatales de VPM en la región de Magallanes	-12-
TABLA 2.	Componentes medio L1	-23-
TABLA 3.	Solución de elementos traza Medio L1	-24-
TABLA 4.	Solución vitamínica Medio L1	-25-
TABLA 5.	Radios N:P	-29-
TABLA 6.	Composición tóxica N>P	-33-
TABLA 7.	Composición tóxica N=P	-37-
TABLA 8.	Composición tóxica N<P	-42-
TABLA 9.	Valores de ANOVA	-45-
TABLA 10.	Toxicidad por concentraciones v/s días	-46-
TABLA 11.	Divisiones/día por concentraciones	-47-

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	Evento de marea roja	-5-
FIGURA 2.	<i>Alexandrium catenella</i>	-8-
FIGURA 3.	Distribución de la toxina PSP	-9-
FIGURA 4.	Expansión geográfica del VPM en Magallanes	-14-
FIGURA 5.	Núcleos de toxicidad en la región de Magallanes	-15-
FIGURA 6.	Representación esquemática de <i>Alexandrium</i> sp	-16-
FIGURA 7.	Ciclo de vida de un dinoflagelado	-17-
FIGURA 8.	Fases de un cultivo típico	-26-
FIGURA 9.	Cromatograma típico de toxinas	-28-
FIGURA 10.	Abundancia de células en N>P	-31-
FIGURA 11.	Tasa crecimiento en N>P	-31-
FIGURA 12.	Toxicidad total en N>P	-32-
FIGURA 13.	Composición tóxica en N>P	-33-
FIGURA 14.	Porcentaje tóxico en N>P	-34-
FIGURA 15.	Relación toxinas/Tasa crecimiento en N>P	-34-
FIGURA 16.	Abundancia de células en N:P	-35-
FIGURA 17.	Tasa crecimiento en N:P	-36-
FIGURA 18.	Toxicidad total en N:P	-37-
FIGURA 19.	Composición tóxica en N:P	-37-
FIGURA 20.	Porcentaje tóxico en N:P	-38-
FIGURA 21.	Relación toxinas/Tasa crecimiento en N:P	-38-
FIGURA 22.	Abundancia de células en N<P	-39-
FIGURA 23.	Tasa crecimiento en N<P	-40-
FIGURA 24.	Toxicidad total en N<P	-41-
FIGURA 25.	Composición tóxica en N<P	-41-
FIGURA 26.	Porcentaje tóxico en N<P	-42-
FIGURA 27.	Relación toxinas/Tasa crecimiento en N<P	-43-
FIGURA 28.	Abundancia por cada concentración	-44-
FIGURA 29.	Tasa crecimiento por cada concentración	-45-
FIGURA 30.	Toxinas por cada concentración	-46-