

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



**Tasa de crecimiento y contenido celular de toxinas de *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen)  
Balech & Tangen bajo diferentes concentraciones de salinidad en condiciones de  
laboratorio**

Marta Elvira Godoy Torres

Director de Tesis : Gemita M. Pizarro Nova

Co-Director de Tesis: Javier A. Díaz Ochoa

2016

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



**Tasa de crecimiento y contenido celular de toxinas de *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen)  
Balech & Tangen bajo diferentes concentraciones de salinidad en condiciones de  
laboratorio**

Marta Elvira Godoy Torres

Director de Tesis : Gemita M. Pizarro Nova

Co-Director de Tesis: Javier A. Díaz Ochoa

2016

**Tasa de crecimiento y contenido celular de toxinas de *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen)  
Balech & Tangen bajo diferentes concentraciones salinidad en condiciones de  
laboratorio**

Por Marta Elvira Godoy Torres

Departamento de Ciencias y Recursos Naturales

Fecha : agosto 2016

Aprobado Comisión de Calificación

Dr. (c) Víctor Díaz Huentelicán

Decano Facultad de Ciencias

Dr. Cristian Aldea Venegas

Jefe de Carrera

Dra. Gemita M. Pizarro Nova

Directora de Tesis

Dr. Javier A. Díaz Ochoa

Co-Director de Tesis

Dra. Gloria Sánchez Sánchez

Comisión

Dr. Máximo Frangopulos Rivera

Comisión

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

2 0 1 6

## **Agradecimientos**

Quiero dar las gracias a todas las personas que me ayudaron en este proceso, en especial a mis padres por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida y sin los cuales no habría podido llegar al lugar donde estoy.

De igual forma, quiero agradecer a mi directora de tesis, la Dra. Gemita Pizarro, por guiarme en esta experiencia y ser una excelente tutora, así como también a mi co-director de tesis, el Dr. Javier Díaz, quien me brindó su apoyo y cooperación en este estudio. Al Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), quiero darle las gracias por darme la oportunidad de trabajar en sus dependencias y de facilitarme todos los materiales necesarios para el correcto desarrollo de mi tesis. También a las personas que me ayudaron dentro de esta institución, les agradezco por su buena disposición y por recibirme como un miembro más de este instituto, en especial a Claudia Zamora y Carolina Toro, quienes me brindaron su apoyo en mis labores, convirtiéndose en buenas amigas para mí.

Al profesor Orlando Dollenz y la Dra. Valeria Latorre, agradecerle por su simpatía y buena voluntad para ayudarme cuando los necesité en momentos importantes.

A mis amigos, muchas gracias por su apoyo, por ayudarme a repasar mi presentación, resolver ciertas dudas en el camino y por todas las risas que me ayudaban a despejar mi mente, sobre todo a Carolina Calabró, quien ha estado acompañándome desde hace muchos años en este trayecto.

A mi novio Christopher, gracias por tu apoyo incondicional, por tu paciencia, por todas las veces que me hiciste sonreír cuando estaba abatida y darme ánimos para seguir adelante.

Gracias a todos.

## **Dedicatoria**

**A mis padres, por su apoyo incondicional y tener siempre fe en mí.**

## Resumen

Dentro de las especies productoras de toxinas del género *Alexandrium* en Chile, *A. ostenfeldii* ha sido poco estudiada por lo cual se considera importante generar conocimiento de esta especie puesto que es productora del complejo de toxinas paralizantes de los moluscos o PST en inglés, reconocido por provocar daños en la salud pública y detrimento de la economía local.

En este estudio se realizaron experimentos exponiendo una cepa de *A. ostenfeldii*, germinada de quistes temporales procedentes de la Isla Concoto en la región de Aysén, a distintas concentraciones de salinidad (25, 30 y 35) para analizar cómo esta variable podría afectar su tasa de crecimiento y producción de toxinas. El experimento tuvo una duración de dos meses, en el cual se obtuvo la curva de crecimiento en las distintas salinidades estudiadas y el perfil de toxinas de la cepa.

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo observar que esta especie tiene un comportamiento eurihalino, pues no hubo diferencias estadísticamente significativas en las tasas de crecimiento de cada experimento. El rango de valores osciló entre 0,04 y 0,05 div/día. Lo mismo ocurrió con las toxinas, cuyo perfil estuvo compuesto por gonyaulatoxina 2-3 (GTX2-3) y saxitoxina (STX). Los rangos para éstas últimas variaron entre 7-9 y 5-6 pg/cel, respectivamente. Sin embargo, sí se encontraron diferencias en relación a la intensidad luminosa a la cual fueron expuestos los cultivos, puesto que el tiempo de duplicación fue mayor si aumentaba el flujo de luz. Este resultado es coincidente con una investigación anterior para la misma especie, en la cual se concluyó que *Alexandrium ostenfeldii* es capaz de adaptarse a la oscuridad y prefiere bajos niveles lumínicos para crecer, a diferencia de aquellos típicos utilizados por los dinoflagelados planctónicos fotoautótrofos. Además, información histórica donde se reportan máximas abundancias de *A. ostenfeldii* en la región de Aysén apoyan esta hipótesis.

Se concluye que *A. ostenfeldii* es una especie eurihalina, condición que le permitiría reproducirse en una variedad de condiciones hidrográficas, desde las estuarinas a las marinas propiamente tal. No obstante, la tasa de crecimiento de la especie es especialmente sensible a intensidades luminosas mayores a  $20 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ , lo cual afectaría su tasa de crecimiento de acuerdo al siguiente estudio.



## ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1. Generalidades del fitoplancton.....	14
1.2. Floraciones Algales Nocivas (FAN).....	15
1.3. Toxinas paralizantes de los moluscos (VPM).....	17
1.4. Descripción del género <i>Alexandrium</i> .....	18
1.4.1. Distribución de <i>Alexandrium</i> spp.....	18
1.4.2. Ciclo de vida de <i>Alexandrium</i> spp.....	19
1.5. Descripción de la especie <i>Alexandrium ostenfeldii</i> .....	20
1.6. Perfil de toxinas de <i>A. ostenfeldii</i> .....	21
1.7. Efecto de salinidad en el crecimiento de <i>A. ostenfeldii</i> .....	23
1.8. Planteamiento del problema y justificación del estudio.....	25
2. HIPÓTESIS.....	26
2.1. Hipótesis de investigación.....	26
2.2. Hipótesis nula.....	26
3. OBJETIVOS.....	27
3.1. Objetivo General.....	27
3.2. Objetivos Específicos.....	27
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
4.1. Obtención de la cepa de <i>A. ostenfeldii</i> AOICNW.....	28
4.2. Etapas de crecimiento <i>Alexandrium</i> spp. en cultivo.....	28
4.3. Medio de cultivo.....	29
4.4. Tasa de crecimiento.....	31

4.5. Análisis de toxinas.....	31
4.6. Experimento de salinidad.....	32
4.7 Análisis estadístico.....	33
5. RESULTADOS.....	34
5.1.Salinidad.....	34
5.2. Tasas de crecimiento.....	39
5.3. Luz.....	40
5.4. Producción de toxinas.....	41
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN.....	49
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes del medio de cultivo L1.....	29
Tabla 2. Solución de metales traza del medio L1.....	30
Tabla 3. Solución vitamínica del medio L1.....	30
Tabla 4. Resumen de la duración de las fases de crecimiento, la tasa de crecimiento y el número máximo de células obtenido en cada salinidad estudiada.....	38
Tabla 5. Comparación de toxinas PSP (pg/celúla) de <i>Alexandrium ostenfeldii</i> de distintas localidades de Aysén (Isla Vergara e Isla Concoto) bajo diferentes condiciones de salinidad.....	47
Tabla 6. Resultados de análisis Kruskal-Wallis para la toxina STX agrupados por salinidad.....	48

Tabla 7. Resultados de análisis Kruskal-Wallis para la toxina GTX-2 agrupados por salinidad.....	48
Tabla 8. Resultados de análisis Kruskal-Wallis para la toxina GTX-3 agrupados por salinidad.....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de especies del género <i>Alexandrium</i> .....	20
Figura 2. Cromatograma de HPLC/FD para análisis de las toxinas Cs.....	22
Figura 3. Cromatograma de HPLC/FD para análisis de las toxinas STX. ....	22
Figura 4. Cromatograma de HPLC/FD para análisis de las toxinas GTX.....	23
Figura 5. Gráfico de las distintas fases de crecimiento del género <i>Alexandrium</i> respecto a las concentraciones de nutrientes en medio de cultivo.....	29
Figura 6. Curvas de crecimiento de la especie <i>Alexandrium ostenfeldii</i> para tres réplicas mantenidas en condiciones de salinidad de 25 PSU. ....	34
Figura 7. Curva de crecimiento de la especie <i>Alexandrium ostenfeldii</i> para tres réplicas mantenidas en condiciones de salinidad de 30 PSU.....	35
Figura 8. Curva de crecimiento de la especie <i>Alexandrium ostenfeldii</i> para tres réplicas mantenidas en una salinidad de 35 PSU.....	36
Figura 9. Curva de crecimiento promedio de los tres diferentes tratamientos de salinidad con logaritmo natural.....	37
Figura 10. Tasas máxima promedio de crecimiento en las diferentes salinidades utilizadas en el experimento.....	39
Figura 11. Recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrados y las correspondientes bandas de confianza del 5%.....	40
Figura 12. Curva de la concentración de toxinas GTX2-3, y STX en 25 PSU de salinidad a lo largo del tiempo.....	41
Figura 13. Curva de la concentración de toxinas GTX2-3, y STX en 30 PSU de salinidad a lo largo del tiempo.....	42

Figura 14. Curva de la concentración de toxinas GTX2-3, y STX en 35 PSU de salinidad a lo largo del tiempo.....	43
Figura 15. Concentración promedio de la toxina GTX-3 observada en cultivos experimentales de la especie <i>Alexandrium ostenfeldii</i> bajo tres condiciones de salinidad.....	44
Figura 16. Concentración promedio de GTX-2 (picogramos/célula) en las diferentes salinidades estudiadas.....	45
Figura 17. Concentración promedio de STX (picogramos/célula) en las diferentes salinidades estudiadas.....	46
Figura 18. Concentración de toxinas en picogramos/célula en cada salinidad estudiada.....	47