



**Instituto de Investigación
de Hidrobiología**



**Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud
Sede Trelew**

INFORME FINAL- PRACTICA PROFESIONAL

**“IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES PRODUCTORAS DE FLORACIONES ALGALES NOCIVAS Y/O
OTRAS ESPECIES DEL MICROFITOPLANCTON DE LA ZONA COSTERA PATAGÓNICA:
AISLAMIENTO y CULTIVO”**

LICENCIANTURA EN PROTECCION Y SANEAMIENTO AMBIENTAL

Alumna: Patricia L. Melillan

Instructora: Dra. Noelia M. Uyua

Institución receptora: Laboratorio de Fitoplancton, Instituto de Investigación de Hidrobiología.

Profesora Asesora: Dra. Norma H. Santinelli

2022

Agradecimientos

Concluida esta Práctica Profesional cierro una etapa de mucho aprendizaje en la cual quiero agradecer a todas aquellas personas que formaron parte de este recorrido.

A mis profesoras Noe y Norma por ayudarme, guiarme, aconsejarme y enseñarme todo lo que aprendí durante esta práctica, gracias por su paciencia, compromiso y predisposición ante cualquier duda que me surgiera como así también gracias por la confianza que depositaron en mi desde el primer momento.

A la directora del Instituto de Investigación de Hidrobiología, María Eva Góngora por su predisposición y permitirme realizar dicha práctica en el laboratorio, haciendo uso de las instalaciones y recursos que necesitara.

A ALUAR y su técnico de laboratorio, por permitirme hacer uso de Microscopio Electrónico de Barrido, lo cual me permitió identificar con mejor precisión las especies.

A mis amigos y compañeros de la uni que conocí en estos años, que hicieron este paso mucho más llevadero, que el estudiar para parciales y finales sea divertido, gracias por esos mates, esas charlas, esas risas, ese compañerismo, ese apoyo que nosotros sabíamos que el otro necesitaba. Sin duda una de las mejores cosas que me llevo de este paso como estudiante.

A mi suegro por dejarme trabajar y acomodar siempre mis horarios de trabajo a la universidad y faltar los días que fueran necesarios para poder estudiar.

A mi amiga de siempre con la cual me reencontré en el momento justo, gracias por apoyarme, aconsejarme y por esas risas que me llevan a nuestra infancia, como si nada hubiera cambiado.

A toda mi familia por esos mensajes, llamados, abrazos de apoyo. Gracias por esas juntadas de cumpleaños, por esas juntadas de fin de semana. Y por esas vacaciones grupales que me recargaban de energía.

Y principalmente agradecer a mi mamá, mi papá, mi hermano y mi pareja, que fueron mi gran sostén a lo largo de todos estos años, incentivándome siempre a seguir y confiar en mí esas veces que sentía que no podía. Gracias, este logro no es solo mío, también es de ustedes.

INDICE

Resumen	5
Introducción	6
Objetivos.....	9
Objetivos generales.....	9
Objetivos específicos.....	9
Área de estudio.....	10
I. Protocolo básico para desarrollar actividades en el Laboratorio de Fitoplancton.....	11
II. Desarrollo de técnicas de muestreo de agua de mar	13
Red de plancton	13
Botellas oceanográficas	14
Tubos y Mangueras muestreadoras	14
Fijación de muestras	15
III. Caracterización físico-química.....	15
IV. Método de análisis cualitativos y cuantitativos de fitoplancton	16
Análisis cualitativo	16
Dinoflagelados Tecados.....	16
Diatomeas	17
Montaje para estudio en microscopio electrónico de barrido. MEB.....	17
Análisis cuantitativos	18
<i>Muestras con densidad fitoplanctónica alta</i>	19
<i>Muestras con densidad fitoplanctónica baja</i>	20
Métodos de conteo en muestra de fitoplancton.....	20
Conteo de células por transecta	21
Conteo de células por campos al azar	21
Análisis Toxicológico	21
Método biológico para la detección de veneno paralizante de moluscos-PSP (TPM)	21
Método biológico para la detección de toxina diarreica de moluscos (TDM)	22
Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	22
V. Identificación de especies	23
Identificación mediante métodos cualitativos.....	23
Identificación de diatomeas.....	23
Identificación de dinoflagelados	24
VI-VII. Cultivos	23

<i>Cultivos obtenidos</i>	29
Curvas de crecimiento	31
Actividades de formación realizadas durante la Práctica Profesional	34
Bibliografía	36
ANEXO I. Fichas	39
Bacillariophyta	39
Dinophyta	56
Ochrophyta	63

Resumen

Las proliferaciones de algas nocivas son fenómenos naturales que han ocurrido a lo largo de la historia. En las últimas décadas, las floraciones producidas por microalgas han sido foco de atención debido al incremento en el número de especies que las producen, su frecuencia, duración e intensidad, así como su extensión geográfica. Este es uno de los problemas recurrentes a los que se enfrenta la costa Patagónica. En la Provincia del Chubut se registra en la década del 80 por primera vez intoxicación de personas por toxinas provocando la muerte de varias de ellas. Este caso fue el inicio para el desarrollo y posterior firma del Decreto Provincial N°1654/85 que puso en marcha el Plan Provincial de Prevención y Control de Marea Roja, el cual pasados los años fue actualizado. La provincia es pionera en la implementación de planes de monitoreo, transformándose en modelo para las restantes provincias con litoral marítimo.

Diversos estudios coinciden en que el crecimiento poblacional, la eutrofización de las costas y el cambio climático global son factores que pueden alterar la calidad de las aguas costeras, favoreciendo el desarrollo de florecimientos algales nocivos, generando no solo un riesgo a la salud de la población humana sino también afectando a sectores económicos y sociales relacionados con el consumo de mariscos. Es por esto que es primordial el monitoreo del fitoplancton.

El objetivo general de esta Práctica Profesional fue adquirir entrenamiento en técnicas de identificación de especies de microplancton características de la zona costera y en particular aquellas potencialmente nocivas, técnicas de aislamiento y generación de cultivos y técnicas cuantitativas y cualitativas utilizadas para estudio de fitoplancton.

Realizada la identificación de las diferentes especies se determinó que el mayor porcentaje de las especies identificadas corresponden a la división Bacillariophyta (70%), en segundo lugar a la división Dinophyta (29%) y en escaso porcentaje la división Ochrophyta (1%). De la totalidad de las especies algunas de las especies identificadas corresponden a especies potencialmente nocivas, mientras que otras corresponden a la composición característica del fitoplancton costero Patagónico.

Introducción

Las microalgas planctónicas son un componente esencial de los mares y océanos del mundo, ya que representan el primer eslabón de la cadena alimentaria. Estas pueblan la mayoría de los hábitats acuáticos y considerando que en la proporción tierra/agua en el planeta el agua es mayor se las considera como responsables de la mayor parte de la productividad primaria en estos ecosistemas, por su eficiencia fotosintética (Graham y col. 2000).

Las comunidades de fitoplancton no son homogéneas, sino que suelen estar formadas por conjuntos de especies con características biológicas y fisiológicas diferentes. La dominancia de una población por encima de otra es un fenómeno variable característico de las sucesiones del fitoplancton, controlada por condiciones ambientales locales y por la respuesta de las poblaciones a las variaciones (Smayda 1997). Las dimensiones pueden ser variables, las células o colonias con dimensión menor a 2 μm son consideradas picoplancton, aquéllas mayores a 20 μm en longitud son consideradas microplancton y las células y colonias entre estos dos extremos comprenden el nanoplancton (Graham y col. 2000).

Algunas especies del fitoplancton tienen la capacidad de reproducirse y aumentar rápidamente su número si están presentes las condiciones ambientales apropiadas, generando así acumulaciones de biomasa conocidas como "florecimientos" o "floraciones". Estos pueden generar cambios en la coloración del agua de mar, razón por la cual han sido llamados "Mareas Rojas" (Villalobos 2017). A su vez numerosas investigaciones han puesto en evidencia el potencial de los microorganismos fotosintetizadores en la producción de sustancias de interés químico, farmacéutico e industrial, además de su utilización en la alimentación animal y el tratamiento de las aguas residuales (Luna 2007).

Si bien la denominación "Marea Roja" es comúnmente utilizada, la Comisión Oceanográfica Intergubernamental de la UNESCO define el término floraciones algales nocivas (FAN) como un término genérico utilizado por la comunidad científica referenciando a las floraciones de fitoplancton, las floraciones de microalgas, las floraciones de algas tóxicas, las mareas rojas o a las algas dañinas, todos fenómenos naturales (Hallegraef 1993; Dale y col. 2003).

Según el tipo de especie que prolifere, su concentración y tipo de pigmento que esté presente en las microalgas, las floraciones pueden tomar diversas coloraciones. Los pigmentos presentes en las microalgas son: clorofila A y C que generan un color verde, xantofilas: peridina (color dorado o pardo), diatominas y diadinoxantina (color amarillo), y fucoxantina (color marrón o pardo) y betacarotenos que generan color amarillo o rojo (González 2021). Es importante destacar que algunas especies altamente tóxicas pueden causar problemas en concentraciones muy bajas y no producir cambios perceptibles en el color del agua (Rey 2011).

Las floraciones algales se pueden clasificar a su vez en nociva; cuando el efecto es indirecto a través del agotamiento del O_2 o nutrientes que les son indispensables a otros organismos; dañina cuando físicamente se obstruye una función vital (la respiración por obstrucción de las branquias) o tóxica cuando producen daños a través de sustancias químicas (toxinas) que pueden alterar la fisiología de los organismos afectados (González 2021).

Teniendo en cuenta las expresiones tóxicas y nocivas se pueden reconocer 5 grupos (Santinelli 2021):

- Especies que forman floraciones con elevada biomasa (efecto nocivo: depleción de oxígeno o efectos físicos)
- Especies productoras de toxinas que afectan a toda la cadena alimentaria

- Especies nocivas que a través de contacto directo producen efectos de aerosol con daños en el sistema respiratorio
- Especies tóxicas en otros organismos marinos peces o invertebrados
- Especies que no causan ninguno de estos problemas, pero producen toxinas en cultivo

Alrededor de 300 especies de microalgas pueden proliferar formando floraciones y casi un cuarto de estas son conocidas por producir toxinas. Las FANs han sido reconocidas por los especialistas a nivel mundial como un tema prioritario. En las últimas décadas, las floraciones producidas por microalgas han sido foco de atención y estudio debido al incremento en el número de especies que los producen, en su frecuencia, duración e intensidad, así como su extensión geográfica (Hallegraef 1993; Dale y col. 2003). Si las floraciones son producidas por especies con capacidad de producir toxinas traen aparejados trastornos de salud y hasta la muerte de animales y humanos. Otro de los sectores en los que tienen grandes impactos las FANs es el económico, representado mayormente por efectos significativos en la pesca y la acuicultura, como así también en el turismo y el ambiental ya que la mortalidad masiva de peces, mamíferos y aves genera a su vez una alteración del equilibrio de los ecosistemas (González 2021).

Una de las explicaciones ante el incremento de FANs a nivel mundial es que son consecuencia del aumento de la polución y la carga de nutrientes en aguas costeras. En general las especies nocivas pueden aumentar debido al enriquecimiento de nutrientes en la misma proporción relativa que el total de la biomasa de fitoplancton; por ejemplo todas las especies son estimuladas proporcionalmente por el enriquecimiento. Sin embargo este enriquecimiento puede resultar en la dominancia de un grupo particular de microalgas que puedan estar adaptadas a capitalizar más eficientemente el enriquecimiento (Santinelli 2008). Sin embargo, las floraciones algales también son fenómenos naturales en los ambientes marinos.

Las microalgas son el alimento natural de moluscos bivalvos filtradores (ostras, ostiones, choritos, cholgas, huepos, almejas, entre otros), de peces herbívoros y de larvas de diferentes organismos marinos, como moluscos y crustáceos, los cuales su vez son alimento marino esencial para los seres humanos. Como consecuencia de esto son numerosos los casos de floraciones de algas que han sido asociadas a severas intoxicaciones y muerte de seres humanos, de mamíferos marinos, aves y peces. (Suarez y col. 2005). Bastan unos pocos cientos (o miles, según la especie) de células por litro para que los mariscos alcancen niveles de toxinas y sobrepasar los límites legales establecidos como nivel de regulación (Reguera 2002). Si las microalgas productoras de toxinas son filtradas por mejillones y otros bivalvos, las toxinas se comienzan a acumular en sus tejidos transmitiéndose a niveles superiores en la red alimentaria, llegando hasta los seres humanos. Las toxinas son tan potentes, que aunque las concentraciones de microalgas sean bajas (10^3 - 10^4 cél L⁻¹) y no se formen manchas en el agua, pueden convertir a los bivalvos en no aptos para el consumo. Los síndromes tóxicos más reconocidos son; Intoxicación Paralizante por Mariscos (Paralytic Shellfish Poisoning =PSP), Intoxicación Diarreica por Mariscos (Diarrheal Shellfish Poisoning =DSP), Intoxicación amnésica por mariscos (Amnestic shellfish poisoning = ASP), Intoxicación Neurotóxica por Mariscos (Neutotoxic Sherllsfish Poisoning= NSP). Aunque en el cono sur se han adoptado otras siglas para hacer referencia a la misma problemática, VPM/TPM (veneno o toxina paralizante de moluscos), VDM/TDM (veneno o toxina diarreica de molusco, VAM/TAM (veneno o toxina amnésica de molusco). Aunque las abreviaciones PSP, DSP, ASP resultan poco precisas por referenciar tanto a los síndromes como a las toxinas que los ocasionan, convendría que sean utilizadas mientras no se acuerde una terminología única entre los iberoamericanos (Reguera 2002).

Dentro de los grupos formadores de Floraciones Algales Nocivas encontramos a los Dinoflagelados; eucariotas unicelulares que se desarrollan en forma simbiótica, parasitaria, béntica o de vida libre, los cuales son una fracción importante dentro de los productores primarios y también las Diatomeas; eucariotas unicelulares fotosintéticas, con presencia de una pared silíceo, ornamentada, siendo el grupo autótrofo más exitoso (formas y especies), aunque los dinoflagelados son responsables de más del 80% de los eventos de FAN en las regiones y las diatomeas los siguen en orden. (González 2021).

En Argentina, el primer registro de intoxicaciones humanas por ingestión de moluscos fue realizado por el Dr. P. Segers en 1886, el cual se trató de un brote de Intoxicación Paralizante de Moluscos. En cuanto a la Provincia de Chubut en 1980 se produce la intoxicación y muerte de dos marineros del buque Constanza que operaba en la región patagónica frente a Península de Valdés (Santinelli 2021). En 1985 en el Estuario del Río Chubut se produce un brote de toxicidad por TPM provocando intoxicación a 18 personas de las cuales 4 posteriormente fallecieron (Vecchio y col. 1986). Si bien las intoxicaciones han seguido ocurriendo a lo largo de los años, este caso fue el inicio para el desarrollo y posterior firma del Decreto Provincial N°1654/85 que puso en marcha el Plan Provincial de Prevención y Control de Marea Roja (Esteves y col. s/a), el cual pasado los años fue actualizado.

En la región costera de la provincia del Chubut desde la década del 80` se ha comenzado a estudiar estos fenómenos (Santinelli y col. 2002), ya que generan no solo un riesgo a la salud de la población humana sino que también afectan a sectores económicos y sociales relacionados con el consumo de mariscos. Anualmente la Secretaría de Pesca financia y realiza campañas de muestreo en 14 estaciones con frecuencia mensual, quincenal y/o semanal de acuerdo a la presencia de especies productoras de toxinas y a los niveles de toxinas en moluscos. Este Plan establece la participación de los organismos provinciales de Salud, Pesca, Ambiente y Turismo, el Instituto de Investigación de Hidrobiología (FCNyCS – UNPSJB) y el Centro para el Estudio de Ecosistemas Marinos (CENPAT - CONICET).

Sus objetivos son:

1. Evitar la intoxicación humana provocada por el consumo directo de moluscos bivalvos y gasterópodos marinos conteniendo toxinas producidas por floraciones algales nocivas (Marea Roja), en la Provincia de Chubut.
2. Optimizar la explotación comercial de las especies de moluscos presentes en la costa de la Provincia de Chubut, fijando las restricciones necesarias para alcanzar el objetivo 1.

Chubut es pionera en el monitoreo de marea roja y se ha transformado en modelo para las restantes provincias con litoral marítimo, mediante el actual Decreto Provincial N° 309/11: Plan Provincial para la Prevención y Control de Mareas Rojas en el litoral marítimo de la Provincia del Chubut, el cual cuenta con diferentes programas para la regulación, control y detección del fenómeno en la zona costera de la provincia. Los cinco programas involucrados son: i) monitoreo de especies nocivas de fitoplancton, ii) control de toxicidad en moluscos bivalvos y gasterópodos, iii) capacitación y difusión sobre el fenómeno marea roja, iv) detección de sintomatología en hospitales y centros de atención médica de la provincia y, v) establecimientos de veda sanitaria a la extracción y comercialización de moluscos en la provincia. Dicho plan es llevado a cabo mediante un acuerdo de trabajo entre la Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud de la UNPSJB y la Secretaría de Pesca del Chubut.

Objetivos

Objetivos generales

- Adquirir entrenamiento en técnicas de identificación de especies de microplancton características de la zona costera y en particular aquellas potencialmente nocivas.
- Adquirir entrenamiento en técnicas de aislamiento y generación de cultivos y mantenimiento de microalgas potencialmente tóxicas.
- Adquirir entrenamiento en técnicas de conteo de fitoplancton.

Objetivos específicos

- Aprender el protocolo básico para desarrollar actividades en los Laboratorios de Fitoplancton.
- Conocer y poner en práctica distintas metodologías para realizar cultivos de microalgas potencialmente nocivas y de especies características del microfitoplancton de la zona costera en el Laboratorio de Fitoplancton dependiente de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Sede Trelew.
- Conocer y poner en práctica distintas metodologías para el mantenimiento de cultivos de microalgas potencialmente nocivas y de especies características del microfitoplancton de la zona costera en el Laboratorio de Fitoplancton dependiente de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Sede Trelew.
- Aprender y llevar a cabo técnicas de muestreo de agua de mar bajo las cuales se desarrollan las microalgas productoras de toxinas.
- Profundizar el conocimiento de las características físicas y químicas de la masa de agua de mar bajo las cuales se desarrollan las microalgas productoras de toxinas.
- Conocer y poner en práctica distintos métodos de análisis cuantitativos y cualitativos de fitoplancton.
- Reconocer las distintas clases algales presentes en las muestras con especial énfasis en especies tóxicas.

Área de estudio

La costa patagónica cuenta con 3.500 km de extensión, es una zona de gran estudio debido a la confluencia de grandes corrientes marinas, la corriente de Malvinas, que fluye hacia el norte la cual se caracteriza por aguas frías, baja salinidad y ricas en nutrientes y la corriente de Brasil, que fluye hacia el sur con aguas cálidas y salinas. Hacia el norte de la costa patagónica, se encuentran los Golfos Norpatagónicos y la Península Valdés (entre 41° y 43° S), de norte a sur se sitúan el Golfo San Matías (17.000 km²); el Golfo San José (814 km²) y el Golfo Nuevo (2.200 km²). El intercambio de las masas de agua depende de la amplitud de las bocas: el golfo San Matías es una gran bahía, los golfos Nuevo y San José tienen una entrada muy estrecha lo que modifica el intercambio y la circulación de las aguas (Lewis y col. 2015). En cuanto al Golfo San Jorge comprende cerca de 40.000 km² siendo el golfo más amplio de la costa Argentina, el cual se extiende desde el Cabo Dos Bahías (44°55'S, 60°32'O) hasta el Cabo Tres Puntas (47°06'S, 65°52'O), es un área de relevancia en cuanto a la reproducción de especies de peces e invertebrados de gran valor económico debido a la presencia de varios frentes costeros y la diversidad de hábitats (Ramos 2015).

Las muestras utilizadas para la identificación de las especies presentes en el fitoplancton marino de la costa Chubutense fueron colectadas en el marco del Plan provincial de Prevención y Control de Mareas Rojas. Las estaciones de muestreo fueron: Puerto Lobos ubicada en el Golfo San Matías; Bengoa, Larralde, Riacho pertenecientes al Golfo San José; Pardelas y Playa Paraná ubicadas en el Golfo Nuevo y Bahía Engaño, Bahía Camarones, Caleta Malaspina y Km 3, Rada Tilly y Belvedere pertenecientes al Golfo San Jorge (Figura N°1).

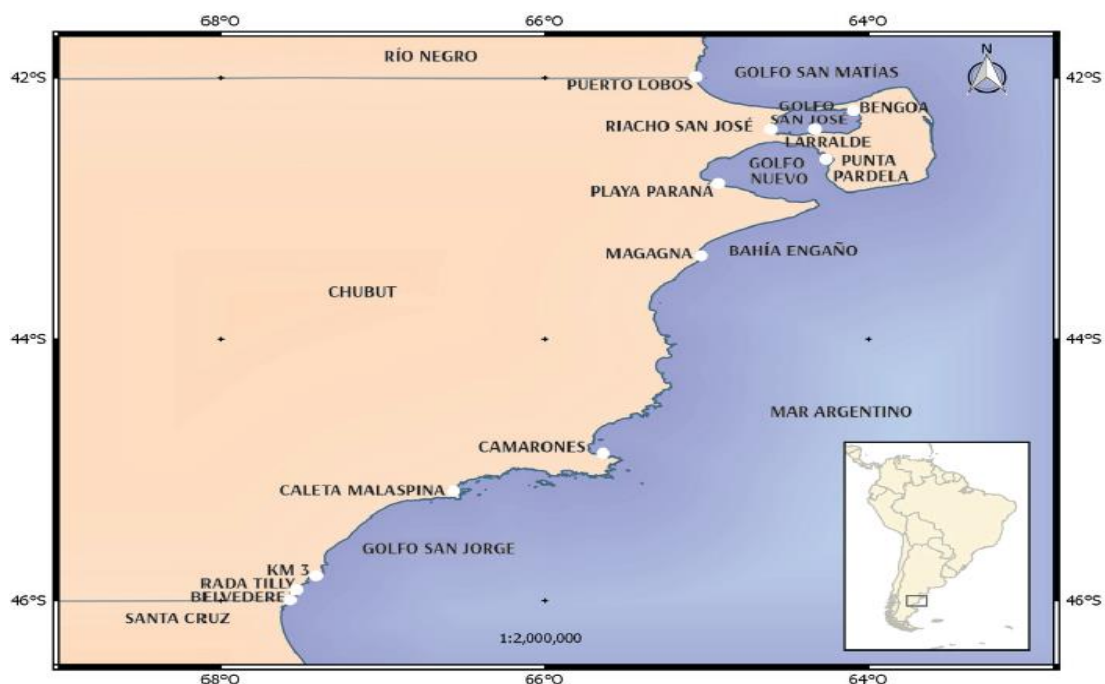


Figura N° 1: Estaciones de muestreo del Plan Provincial de Control y Prevención de Marea Roja. Tomada de Sastre y col. 2019.

I. Protocolo básico para desarrollar actividades en el Laboratorio de Fitoplancton.

Normas básicas.

Tomado de "Protocolo básico para desarrollar actividades en los laboratorios de biología, química y dependencias". Sede Trelew, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, UNPSJB. Los espacios tienen usos compatibles. El espacio en los laboratorios es compartido. Acordar con el docente a cargo cuál es tu espacio de trabajo.

La limpieza es responsabilidad de todos los usuarios. El material de trabajo debe ser devuelto en las mismas condiciones en las que fue entregado. Todos los equipos utilizados deberán dejarse en condiciones óptimas de limpieza para su posterior utilización (material de vidrio, microscopios, lupas, estufa).

Protección durante el desarrollo de la actividad de laboratorio.

- Es obligatorio el uso del guardapolvo en el laboratorio preferentemente de algodón.
- Llevar zapatos cerrados.
- El cabello largo supone un riesgo, por lo que debe evitarse manteniéndolo siempre sujeto.
- Uso de guantes y barbijo si fuese necesario.

Normas básicas para trabajar con seguridad.

- No comer ni beber en el laboratorio ya que es posible que los alimentos o bebidas puedan contaminarse, o puede ensuciar y deteriorar equipo valioso.
- Entrar en el laboratorio sólo con lo imprescindible. Depositar las cosas (abrigo, mochilas, bolsos, etc.) en el lugar destinado para ello. Siempre alejados del material óptico u otro equipo de laboratorio.
- Lavarse siempre las manos después de realizar una actividad y antes de salir del laboratorio.
- No inhalar, probar u oler productos químicos si no estás debidamente informado. No acercar la nariz a un tubo de ensayo o a algún recipiente que contenga un reactivo. Cerrar los frascos o botellas de reactivo inmediatamente después de utilizarlos.
- No devolver nunca a los frascos de origen los sobrantes de los reactivos utilizados sin consultar con el docente a cargo.
- No pipetear con la boca. Utilizar siempre las peras, pro-pipetas, etc.
- No utilizar, ni limpiar frascos de reactivos que no tengan etiqueta.
- No sustituir un producto químico por otro sin la autorización del docente a cargo.
- Trabajar con orden y limpieza. Mantener el área de trabajo ordenada y únicamente con los útiles necesarios. Mantener la mesa y la campana extractora siempre limpias. No sentarse en la zona de trabajo. Limpiar inmediatamente todos los productos químicos derramados.
- Limpiar siempre perfectamente el material y aparatos utilizados después de su uso.

Manejo de Reactivos.

Manipulación de productos químicos.

- No calentar nunca líquidos inflamables con un mechero.
- Cerrar la llave del paso del gas cuando no se use.
- Trabajar en campana extractora siempre que se use sustancias volátiles.
- Está terminantemente prohibido pipetear con la boca.
- Uso de guantes de látex.
- No calentar nunca un recipiente cerrado.

Transporte de reactivos.

No transportar innecesariamente reactivos de un sitio a otro del laboratorio. Las botellas se transportan tomándolas por el fondo nunca por la tapa o el cuello.

Almacenamiento de reactivos.

Tomar conocimiento de los requerimientos para el almacenamiento y guardarlos correctamente. Nunca guardar un reactivo en el armario de uso común.

Si se necesita un reactivo del cual no se tiene posesión pedir permiso antes de usarlo al docente a cargo o al encargado de laboratorio, aunque sea en pequeña cantidad. Si la cantidad que se necesita es grande utilízalo con permiso y reponerlo inmediatamente de manera que no se acabe.

Autoclave

Proceso de esterilización a presión y vapor. Se ajusta el nivel de agua, se cierra la tapa, se enciende la autoclave. Una vez que levanta temperatura (flujo de vapor constante), se cierra la llave de vapor y se espera hasta que la presión manométrica alcanzada sea de 1,5. Mantener regulando la llama durante 30-40min dependiendo de los materiales a esterilizar. No sobrepasar el valor de presión por seguridad.

II. Desarrollo de técnicas de muestreo de agua de mar

En la Provincia del Chubut desde 1980 se detectan especies nocivas que pueden generar toxinas afectando a la salud pública y a la economía debido a la pérdida del recurso.

Uno de los programas del Plan de Monitoreo Provincial puesto en marcha en el 1985, y su posterior actualización está basado en la toma de muestra de fitoplancton, agua y moluscos bivalvos y gasterópodos. Una baja concentración es señal de un posible episodio de toxicidad lo cual se determina mediante análisis cualitativos y cuantitativos de microalgas presentes en la columna de agua en cercanías de los bancos de moluscos (Reguera 2002).

El muestreo de la columna de agua puede realizarse mediante diferentes métodos, basándose en las características biológicas y geográficas del sitio:

- Red de plancton
- Botellas oceanográficas
- Tubos y Mangueras muestreadoras

Red de plancton (Reguera 2011); (Sastre y col. 2019).



Figura N°2: Red de fitoplancton. Foto por Uyua Noelia.

Es el método más empleado, aunque no el más recomendado para análisis cuantitativos, ya que la red es un método selectivo basado en el tamaño de abertura de la malla. En la práctica se utilizó la red estándar de una boca, con cuerpo o cono filtrante con apertura de malla de 10-20 μm , un recipiente colector y peso o "muerto" a fin de mantener la tensión como se muestra en la Figura N°2. El principio de este método es realizar un arrastre vertical, desde la profundidad de la capa fótica, la cual se estima usando el disco Secchi, hasta la superficie. La velocidad de arrastre no debe superar 1 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ (2 nudos) ya que puede romperse la tela, taponamiento o pérdida de muestra.

En primer lugar se baja la red desde la embarcación con su colector (Figura N° 3), peso o plomo y cabo (soga) con marcas de longitud. Asegurándose que la red no cuente con algún impedimento que evite su descenso, si esto ocurre se debe purgar (el agua ingresa por la boca y sale por el colector).

Cuando la red llega a la profundidad deseada, se debe comenzar a subir de manera lenta y cuidadosa. Recuperada la red, se desmonta el colector y se vierte el contenido en un recipiente de vidrio y termoaislante portátil para ser transportado in vivo al laboratorio y otra parte llevada al laboratorio es fijada con lugol para su análisis. Una vez realizada la toma de la muestra se debe proceder al lavado de la red lo más rápido posible para remover el agua salada y organismos que hayan quedado adheridos, a veces es necesario el uso de detergente o jabón. Una vez limpia debe secarse al aire y se guarda en un lugar fresco y oscuro.



Figura N°3: Detalle del colector.

Botellas oceanográficas (Reguera 2011); (Sastre y col. 2019).



Figura N°4: Botella Van Dorn. Foto por Uyua Noelia.

Si bien la red es lo más utilizado, lo más recomendado es el uso de botellas tipo Van Dorn, Niskin o Nansen, debido a que colecta una muestra de volumen deseado apropiadas para análisis cualitativo y cuantitativo de fitoplancton en una profundidad determinada de la columna de agua.

La botella Van Dorn (utilizada en esta práctica) es un cilindro metálico o plástico el cual posee un sistema de cierre y apertura mediante una válvula que se activa mecánicamente con un mensajero enviado desde la superficie, como se muestra en la Figura N° 4.

En primer lugar se sujeta la botella al cable, con las dos tapas sujetas abiertas. Se procede al descenso de esta mediante un cable. Llegada a la profundidad deseada se lanza a través del cable el mensajero. El mensajero golpea el dispositivo de cierre y las dos tapas se cierran automáticamente atrapando la muestra de agua. Una vez realizada la toma se sube el cable y se recupera la botella. Se pueden utilizar más de una botella en caso de que se desee, lo cual permitiría describir la distribución vertical de las especies fitoplanctónicas presentes.

Tubos y Mangueras muestreadoras (Reguera 2011).

El uso de mangueras permite obtener una muestra integrada de la columna de agua, siendo apropiadas para análisis cualitativo y cuantitativo de fitoplancton. Las microalgas pueden presentar una distribución vertical muy heterogénea y los métodos de muestreo convencionales como botellas pueden no detectar estas altas densidades si se encuentran en otras profundidades que las determinadas para el muestreo. Lo cual genera un riesgo para los programas de monitoreo que necesitan obtener resultados cuantitativos sobre las concentraciones de especies potencialmente tóxicas.

En primer lugar se introduce la manguera lentamente, con las llaves de paso abiertas, hasta llegar a la marca de superficie. Cuando la marca de superficie toca el agua, se cierra la llave de paso superior, quedando el agua de la manguera retenida por capilaridad. Se comienza a recuperar la manguera y se van cerrando las llaves de paso a medida que se hacen visibles. Recuperada toda la manguera, se separan los colectores y cada segmento es vaciado en un recipiente rotulado. Se agita la muestra y se toman alícuotas de agua en frascos debidamente etiquetados y se fija inmediatamente la muestra con Lugol (0.5 ml/100ml).

Fijación de muestras

La fijación se efectúa en el momento en el que se recoge el material de la red de fitoplancton. Si bien no existe un fijador y agente conservante universal adecuado para todas las microalgas, el fijador y conservante más usado es la solución de yoduro potásico, conocida como solución de lugol. No presenta los inconvenientes de higiene y seguridad en el trabajo que supone el uso de formol. El lugol se degrada por foto-oxidación, por lo que las muestras deben conservarse en la oscuridad, controlando periódicamente la pérdida de color de la muestra, añadiendo más reactivo si fuera necesario. En caso de ser posible se utilizan frascos caramelo los cuales son impermeables a los rayos UV, permitiendo la conservación de las muestras durante periodos más largos de tiempo (Ferrario y col. 1995).

III. Caracterización físico-química de la masa de agua en la cual se desarrollan las especies

La proliferación de microalgas puede estar asociada a determinadas condiciones ambientales, como por ejemplo situación de calma o ausencia de vientos, transparencia y penetración de la luz, estratificación de la temperatura, condiciones de salinidad, mayor concentración de CO₂ y O₂ disueltos, de nutrientes como nitrógeno, fósforo y sílice. Además, factores antropogénicos (actividades humanas), causantes de la alteración de las características físico-químicas de los ambientes podrían resultar en un bloom de alguna especie presente en el fitoplancton (González 2021).

En el marco del Plan Provincial de Control y Monitoreo de Marea Roja se toman muestras de agua para análisis de salinidad, nutrientes y oxígeno disueltos los cuales son enviados al Laboratorio de Química del Centro Nacional Patagónico (CENPAT) en la Ciudad de Pto. Madryn. Las muestras de fitoplancton son analizadas en el Laboratorio de Hidrobiología de la Universidad de la Patagonia (UNPSJB) de Trelew, mientras que las muestras de moluscos bivalvos son analizadas en el Laboratorio de Salud Ambiental de la Ciudad de Trelew.

Cada muestra tomada en las campañas es acompañada por una planilla de campo que brinda información correspondiente a parámetros ambientales y físicos del momento de la toma.

Dicha planilla por lo tanto consta de:

- Fecha y hora
- Coordenadas geográficas
- Estado de la marea
- Viento
- % de nubes
- Profundidad
- T°C superficie
- T°C fondo
- Profundidad de visión del disco de Secchi
- Profundidad máxima

Temperatura y Salinidad → Afectan la fisiología de las microalgas. Cada especie posee rangos óptimos para su desarrollo. Las características termohalinas del agua determinan su densidad. Su medición puede realizarse mediante el método tradicional con termómetros de inmersión, sonda multiparamétrica, o sonda CTD (Conductivity, Temperature, Depth - Conductividad, Temperatura-Profundidad), son las de mayor precisión.

Transparencia del agua → Mediante la utilización del disco secchi, el cual estima la penetración luminosa o transparencia del agua, que es inversamente proporcional a la turbidez de la columna de agua.

La turbidez depende de la concentración de partículas en suspensión, como el fitoplancton, sedimentos de erosión o resuspendidos del fondo, descargas de efluentes de origen antropogénico, etc, causando dispersión (scattering) y absorción de la luz por las sustancias coloreadas (pigmentos, sustancias húmicas disueltas). La medida de profundidad del disco secchi es de utilidad para elegir las profundidades adecuadas de toma de muestras para análisis de fitoplancton, ya que en aguas oceánicas muy transparentes la capa fótica y profundidad de compensación es mucho más profunda que en aguas costeras de elevada turbidez (Reguera 2011).

Nutrientes y Oxígeno disuelto → El incremento de nutrientes estimula la producción primaria pudiendo generar florecimientos algales visibles, espumas de algas, excesivo crecimiento de algas bentónicas, y crecimiento masivo de macrófitas sumergidas y flotantes. Los nutrientes orgánicos e inorgánicos, las condiciones físicas y biogeoquímicas locales, los procesos biológicos, determinan un delicado balance con el oxígeno disuelto que puede estar condicionado por los escenarios climáticos y por la mezcla vertical existente. Entre los trastornos más serios producidos se pueden mencionar: la disminución de oxígeno disuelto que trae como consecuencia mortalidad de peces, formación de sustancias indeseables tales como dióxido de carbono en concentraciones elevadas, metano, ácido sulfhídrico, amonio y ácidos orgánicos, etc. (Santinelli 2008).

IV. Método de análisis cualitativos y cuantitativos de fitoplancton con especial énfasis en identificación de especies nocivas.

Análisis cualitativo

El análisis cualitativo de una muestra permite conocer y confeccionar una lista de los taxos de la comunidad fitoplanctónica. Estos estudios se realizan por medio de la microscopia óptica normal, con contraste de fase, la microscopia electrónica de barrido y de transmisión. Existen diversos métodos, dependiendo del grupo taxonómico que se esté analizando.

- Dinoflagelados Tecados

Técnica del hipoclorito de sodio para la separación de placas.

El hipoclorito de sodio es el reactivo usado para aclarar el protoplasma y disociar las tecas de dinoflagelados ya que la forma, cantidad y ubicación de las placas poseen carácter taxonómico en éstos (Sastre y col. 2019). Se trata del blanqueador de ropa y desinfectante domestico más común (lavandina) el cual cuenta con un porcentaje de cloro activo, funcionando como oxidante, blanqueando el protoplasma y desarticulando las placas de los dinoflagelados, probablemente como consecuencia de la degradación de las membranas celulares (Ferrario y col. 1995).

Se coloca una alícuota del material a analizar entre porta y cubreobjetos. Posteriormente se emplea solución de hipoclorito de sodio (total de 35 gCl/l se usa una dilución de 1 ml en 10 ml de agua) (Balech 1988) por uno de los bordes del cubre, con suma precaución sin perder de vista el ejemplar analizado. Luego de su acción las tecas se desmiembran con mucha facilidad. Se puede realizar un leve toque sobre el cubreobjetos con una aguja histológica para desarticularlas más rápidamente. La gota de hipoclorito de sodio se coloca desde el ángulo opuesto, al campo que se esté observando, por lo cual es importante no tener liquido en exceso.

- Diatomeas

Protocolo de oxidación (Hasle y Fryxell. 1970).

Limpieza de los frústulos.

Si se trabaja con muestras de mar, primero se deben sacar las sales lavando con agua destilada. Para esto, centrifugar la muestra, retirar el sobrenadante, homogenizar la muestra y agregar agua destilada. Repetir este paso al menos 5 veces. Colocar el material en tubos de centrifugas utilizando pipeta automática (entre 3 y 5 ml aproximadamente). Centrifugar 3 min. a velocidad 2 (2000 RPM). Añadir aproximadamente la misma cantidad de ácido sulfúrico (H₂SO₄), agitar. Añadir porciones de permanganato de potasio (KMnO₄), solución saturada en agua destilada, recién preparada, continuar hasta que la muestra tome un color púrpura, en este paso hay burbujas. Se añadió pequeñas cantidades de ácido oxálico saturado en agua destilada (preparación reciente). Continuar el proceso hasta que la muestra se aclare. Centrifugar y descartar el exceso de líquido. Lavar la muestra con agua destilada, mezclar y centrifugar nuevamente. Realizar este proceso varias veces hasta lograr pH > 6. Observar al microscopio óptico una gota para cerciorarse de la limpieza lo cual lo corroboramos con la presencia de frústulos vacíos. Si hay remanente de materia orgánica, oxidar nuevamente. Lavar hasta que sea necesario.

- Montaje para estudio en microscopio electrónico de barrido. MEB (Hasle 1978; tomado de Ferrario y col. 1995).

La tarea realizada en el Laboratorio de Fitoplancton previo al transporte fue la siguiente:

- Se colocó una gota de muestra previamente lavada y oxidada sobre tacos de vidrio de 1cm x 1cm mediante el uso de Pipeta Pasteur logrando el mayor esparcimiento posible. Dichos tacos fueron identificados mediante clave numérica representando un sitio de muestreo específico (Figura N° 5).
- Se dejan secar las gotas a temperatura ambiente aproximadamente 20 min, procurando que no caiga ningún tipo de partícula sobre estas ya que influiría en los resultados finales.
- En un portaobjetos se colocó una cinta doble faz (Figura N°6).
- Una vez que las gotas sobre los tacos se secaron fueron montados sobre la cinta doble faz mediante ayuda de una pinza (Figura N°7).
- Adheridos los tacos a la cinta se procedió a la rotulación sobre este y se guardó en una caja de transporte para su posterior análisis (Figura N°8).

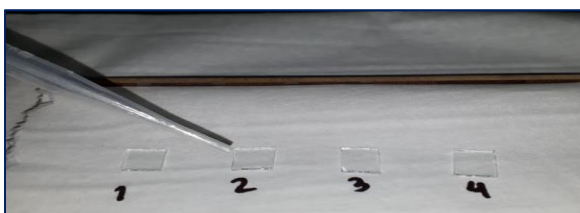


Figura N° 5: Carqa de gotas en los tacos de vidrio.



Figura N° 6: Cinta doble faz en el portaobjetos

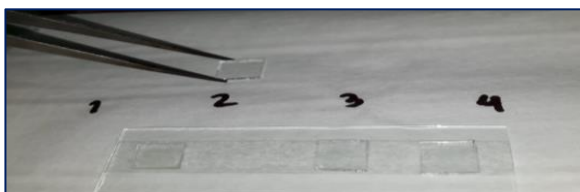


Figura N° 7: Montaje de los en el portaobjetos.

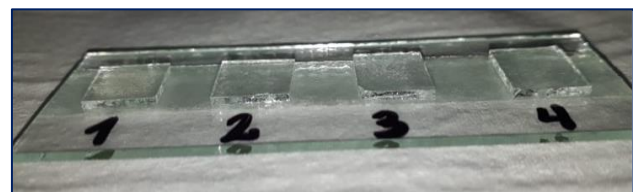


Figura N° 8: Gotas secas y portaobjetos rotulados.

Una vez llegada la muestra a ALUAR:

- Se realizó un baño oro-paladio. Para esto la maquina (Figura N°9) debió haber realizado vacío para asegurar que no quede otro tipo de partícula en suspensión. Esto se logró cuando la maquina llegó a 110 MTORR pasado los 3 minutos.
-Realizado el baño, el portaobjetos con las 4 submuestras fue introducido al MEB (Zeiss Sigma 300 VP- Gemini 1), (Figura N° 10) el cual previo al análisis debió realizar también el correspondiente vacío en la cámara.
-La transmisión del MEB era realizada mediante un sistema de computadoras en el cual se visualizaban los ejemplares presentes.



Figura N° 9: Máquina para realizar baño Oro-paladio.
Foto por Betti Franco.



Figura N° 10: MEB (Zeiss Sigma 300 VP- Gemini 1).
Foto por Betti Franco.

Análisis cuantitativos

Permite la estimación del número de organismos presentes de cada especie en un volumen determinado de muestra. Las ventajas del recuento microscópico por sobre otros métodos de estimación son: posibilidad de visualizar características morfológicas y los cambios que puedan presentar (tamaño, presencia de colonias, de esporas, ataque de parásitos, etc.), estimación de población con densidad baja. Identificación de taxos y por ende conocimiento de la taxonomía de la comunidad y conocimiento de la sucesión de las especies.

Cuando la muestra contiene gran cantidad de material fitoplanctónico es posible contar los organismos que la componen en un volumen pequeño, entendiendo que éste contiene un número representativo de la muestra a analizar. Los métodos utilizados en estos casos son:

- Conteo en una alícuota de muestra.
- Conteo utilizando cámaras.

Cuando las muestras contienen poco material fitoplanctónico se debe realizar un procedimiento extra para poder concentrar el material y así lograr un número considerable de células. Los métodos pueden ser:

- Filtración
- Centrifugación
- Sedimentación

Muestras con densidad fitoplanctónica alta

- Conteo en una alícuota de muestra

Se realiza una homogeneización de la muestra, se toma un volumen conocido y se coloca entre porta y cubreobjetos. El volumen puede ser variable pero debe ser conocido con exactitud. Este método tiene la ventaja de no requerir equipo especial y la posibilidad de cambiar la orientación de las células.

- Conteo utilizando cámaras

Cámara Sedgwick-Rafter

Constan de una base transparente sobre la cual se monta una cámara de 50 x 20 x 1 mm, de capacidad de $1000\text{mm}^3 = 1\text{cm}^3 = 1\text{ml}$. La cámara se cubre con un portaobjetos. Son recomendadas para

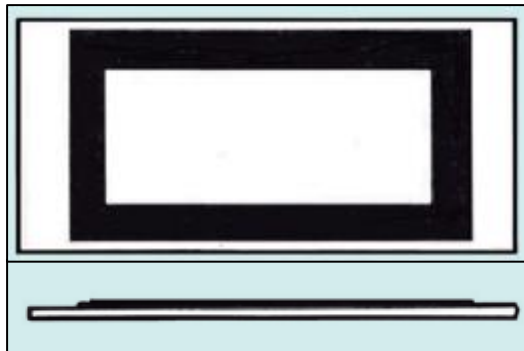


Figura N°11: Cámara de recuento Sedgwick-Rafter (Tomado de Villafañe y col. 1995)

conteos de células cuyo tamaño se encuentra en un rango de 20-500 μm . Pueden ser de material de vidrio o plásticas, en el segundo caso tiene como ventaja el menor valor pero su desventaja es que se rayan con facilidad perjudicando la visualización. Llevan tallado un retículo de 50 columnas por 20 filas, quedando su área dividida en 1000 cuadrados de 1mm^2 de superficie, lo cual facilita el recuento de muestras densas permitiendo contar pequeñas fracciones del total de la cámara Figura N°11 (Reguera 2011).

Se vierte la muestra mediante uso de pipeta Pasteur perpendicular a la cámara, con una pequeña inclinación apoyada en la esquina superior izquierda. Se coloca el cubre en diagonal, quedando un pequeño triángulo descubierto en la esquina superior izquierda y otro en la inferior derecha.

Cámara Palmer- Maloney

Cámara de vidrio circular de 17,9 mm de diámetro y 0,4 mm de profundidad, con una capacidad para 0,1 ml de muestra. Recomendada para realizar conteos de microplancton y nanoplancton. La cámara se llena por una de las ranuras que posee por su parte media como lo indica la flecha amarilla y luego se la cubre con un portaobjetos Figura N° 12 (Ferrario 1995).



Figura N°12: Cámara Palmer Maloney y zona de carga.

Muestras con densidad fitoplanctónica baja

- **Filtración**

Mediante utilización de filtros. Tiene como ventaja observar organismos con aumentos altos y de un rango específico debido al tamaño del poro del filtro. También presenta ciertas desventajas como imposibilidad de manejar las células, dificultad de identificación, distribución no al azar debido al agrupamiento en los filtros. Se filtra un volumen de muestra usando filtro de acetato de celulosa y se lo deja secar en un portaobjetos, añadiéndole aceite de inmersión para para clarificarlo, se coloca un cubreobjetos y se observa al microscopio (Ferrario y col. 1995).

- **Centrifugación**

Se puede usar para muestras vivas o fijadas. Se coloca un volumen conocido de muestra y se lo centrifuga por 20 minutos a 1000 rpm, luego se elimina el sobrenadante hasta llegar al fondo concentrado de 0,1 – 0,2 ml o 1ml dependiendo de qué cámara de conteo se utilizara (Ferrario y col. 1995).

- **Sedimentación**

Se deja sedimentar una muestra en un cilindro de sedimentación, de manera que después de un tiempo determinado los organismos presentes hayan precipitado (Figura N° 13). La cámara consiste en



Figura N°13: Muestra en cilindro de sedimentación.

una base rectangular con un vidrio del espesor de un cubreobjetos en la parte central que se sujeta con un anillo metálico. La base rectangular tiene un pequeño orificio en uno de los extremos por el cual se elimina el sobrenadante de la muestra y una abertura circular de 26mm de diámetro sobre la cual se coloca el cilindro y posteriormente la muestra. La muestra debe estar homogeneizada antes de ser añadida al cilindro, el volumen de la submuestra va a depender de la concentración del material a analizar (más densa la muestra menor volumen y viceversa), ya que puede haber superposición de organismos, presencia de detritus dificultando la observación.

Una vez colocada la submuestra se tapa en su parte superior para evitar pérdidas por la parte inferior por la presión hidrostática. Después de un tiempo de sedimentación siendo de al menos 24hs basándose en la cantidad de muestra y el fijador usado, el cilindro se

separa de la base usando un vidrio cuadrado el cual también sirve para tapar la muestra de fitoplancton a contar (Ferrario y col. 1995).

Métodos de conteo en muestra de fitoplancton

Debe de corroborarse una distribución al azar de los organismos y establecer criterios a tomar al momento de realizar el conteo (se cuentan o no colonias, estado del organismo que se cuenta, entre otras).

Conteo de células por transecta

Si se desean contar las células presentes en toda la cámara se posiciona el campo delimitado por la grilla en la esquina izquierda de la cámara (Sedgwick-Rafter), o bien en el campo sobre la tangente izquierda (cámara de sedimentación del microscopio invertido). Entonces se comienza a mover lentamente la platina horizontalmente, contando los organismos presentes en cada campo de observación, como así también aquellos que se encuentran cruzando en su límite superior derecho (los organismos que se encuentran cruzando el límite inferior e izquierda se van a contar en la transecta o campo siguiente). Cuando se llega al final de la transecta, se mueve la platina, verticalmente, de manera que la grilla se ha movido hacia abajo su propio ancho. En general, se utiliza cualquier partícula cerca de la última línea de la grilla como referencia para ubicar la grilla en la nueva posición. Entonces, se comienza a mover la platina en el sentido opuesto, y manteniendo el mismo criterio de cómo contar los organismos que aparece cruzando el límite de la grilla. Este procedimiento se repite hasta contar los organismos en el área deseada (Cadaillón 2011).

Conteo de células por campos al azar

La submuestra se divide en campos, para esto se divide la cámara en una grilla de campos no superpuestos y se seleccionan al azar los campos a contar. La grilla puede estar dibujada en el fondo de la cámara o puede determinarse una serie de coordenadas en la escala del vernier del microscopio, también al azar (Cadaillón 2011).

Análisis Toxicológico

Los análisis de toxicidad son llevados a cabo diariamente por Dirección de Salud Ambiental pertenecientes al Ministerio de Salud de la Provincia del Chubut. Una de las prácticas realizadas en el taller de Monitoreo de Floraciones Algales Nocivas y Ficotoxinas consistió en la visita al lugar en donde se conocieron las instalaciones y se presenciaron las técnicas mencionadas a continuación.

Método biológico para la detección de veneno paralizante de moluscos-PSP (TPM) (AOAC 1995)

Se limpia el exterior de los moluscos con agua dulce para quitarles la sal y algas adheridas. Se abren mediante el corte de los músculos aductores y se enjuaga el interior con agua dulce para eliminar arena y otras sustancias extrañas. Se separa la carne de la concha seccionando los músculos aductores y el tejido adherido a la charnela (no utilizar calor ni anestésicos para abrir las conchas y tener cuidado de no cortar o dañar el cuerpo de los moluscos en esta etapa ya que esto puede interferir con los resultados). Se acondicionan las carnes para permitir su drenado durante 5 min, se descarta el drenado y se recogen 100-150 g de carne, procediendo luego a su homogeneización. Se añade 100 ml de CIH 0.1 N y se agita vigorosamente. Es importante comprobar el pH (debe estar entre 2 y 4, preferiblemente 3) y si fuese necesario, ajustarlo agregando NaOH 0.1 N gota a gota. Se calienta el homogeneizado en placa calefactora o en mechero Bunsen, manteniendo en ebullición suave durante 5 min prestando mucha atención que no rebalse. Se enfría bajo campana hasta que permita la manipulación del vaso de precipitado. Transferir el homogeneizado a un tubo de precipitado de 5 ml y dejar reposar hasta que la porción líquida (sobrenadante) sea traslúcida y libre de partículas sólidas lo suficientemente grandes como para atorar la aguja hipodérmica. Centrifugar el homogeneizado o el líquido sobrenadante durante 5 min a 3.000 rpm, o filtrar a través de papel.

Se eligen ratones albinos de aproximadamente 20 g de peso los cuales son llevados al sector de inoculación y observación. Posteriormente se inyecta 1 ml de extracto a cada uno de 3 ratones y se registra el tiempo de muerte (Tm). Con los datos del peso del ratón, dilución del extracto y la mediana del

tiempo transcurrido hasta su muerte se calcula la toxicidad en unidades ratón (UR). Se define la UR como la cantidad de toxina que produce la muerte de un ratón de 20 g en 15 min. Con ayuda de las tablas de Sommer y del factor de conversión (FC) se transforman en µg de equivalentes de STX por Kg de molusco (µg STX eq. /Kg de carne).

Método biológico para la detección de toxina diarreaica de moluscos (TDM)

La preparación de los moluscos es idéntica que para TPM. Se homogeneiza aproximadamente 100 g de carne con ayuda de un triturador y se licúa con 250cc de acetona por aproximadamente 1-2min. Se hace pasar la mezcla por papel de filtro y se aplica vacío para acelerar el proceso, recolectando todo en un kitasato. Luego de obtener una pasta seca se recolecta y se vuelve a triturar con acetona, repitiendo 3 veces usando un total de 500cc de acetona. Se descarta la parte resultante y se continúa con el líquido obtenido de las 3 extracciones. Se pasa el extracto acetónico a un balón de destilación de 1000ml y se evapora a sequedad en rota vapor, con el baño de agua a una temperatura de aproximadamente 40 °C (nunca superior a 45 °C) y una presión entre 30 y 50 bar para una recuperación más eficiente.

Finalizada la destilación se limpia bien el balón con 40cc de éter etílico (el cual extrae la toxina del líquido remanente), colocando cada uno de los lavados en un cono de decantación. Una vez que se separan las fases (toxina abajo y agua más acetona arriba), se recolecta el decantado (mezcla de éter etílico y TDM) en una caja de Petri y se lo deja evaporar bajo campana durante 24hs. Pasado el tiempo se redissuelve el residuo con una solución acuosa de Tween 60 al 1%, previamente atemperada a 40 °C de tal forma que el volumen final de inóculo sea aproximadamente 5 ml. La relación peso/volumen a obtener será de aproximadamente 5 g de carne iniciales por ml de solución acuosa de Tween 60 al 1%.

Se inoculan por vía intraperitoneal 3 ratones de aproximadamente 20 g con alícuotas de 1 ml de la disolución anterior. Se anota la hora de inoculación y se mantienen los ratones en observación al menos 24 horas. El bioensayo se considera positivo a la presencia de OA, DTXs, PTXs y YTXs cuando se produce la muerte de al menos 2 de los 3 ratones inyectados en un período menor o igual a 24 horas después de la inyección.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) (Lagos 2002).

Es una técnica analítica avanzada, la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC = High Performance Liquid Chromatography), aplicada a la identificación y cuantificación de las ficotoxinas, es una tecnología de gran sensibilidad, precisión y reproducibilidad, que permite obtener información sobre la composición cualitativa y cuantitativa («perfil») de los complejos tóxicos.

Se pesa 100 gramos de carne de molusco, previamente lavados con agua fría, escurridos y secados con papel absorbente. Picar la carne y agregar 100 ml de HCl 0.1 N. Homogenizar en licuadora y llevar a un volumen final de 200 ml con HCl 0.1 N; ajustar el pH entre 3-4. Extraer en baño María. Enfriar con agua de la llave y después con hielo. Esta mezcla se filtra en papel Whatman # 1 o se centrifuga, a 4000 rpm, durante 5 min. Para análisis por HPLC, al sobrenadante hay que hacerle una limpieza adicional. Se toman 2 ml y se pasan a través de un cartucho Sep-Pack C18 (WATERS) previamente activado con metanol y equilibrado con agua. Se eliminan los primeros 1.5 ml y se recolectan los 0.5 ml finales, los cuales se colocan directamente en un microtubo-filtro (peso molecular de exclusión de 5000 daltons, ultrafree C3GC, Millipore) y se centrifuga a 8000 rpm durante 2 min. De este ultrafiltrado, se inyectan tan sólo 10 µl en la columna del cromatógrafo, para la separación y cuantificación de las toxinas.

V. Identificación de especies

La identificación cualitativa se realizó utilizando las muestras de red recibidas fijadas con lugol a fin de conservar sus estructuras celulares para su posterior estudio. Las observaciones se realizaron mediante la utilización de microscopio óptico invertido Leitz DMIL, teniéndose en cuenta para su determinación las dimensiones de cada especie, su morfología, etc, utilizándose como guía para la identificación páginas web especializadas y diversa bibliografía de base:

- Alga Base (<https://www.algaebase.org/search/genus/>).
- Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1.
- Tomas R., 1997. Identifying Marine Phytoplankton. Academic Press.
- Ferrario M., y col. 2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la Provincia de Chubut.
- Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.
- Sastre V., y col. 2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut.
- Otros trabajos científicos.

▪ Identificación mediante métodos cualitativos

Identificación de diatomeas

Se realizó la oxidación de materia orgánica que estas contenían en su interior, con el fin de lograr la mejor visualización de la morfología de la estructura silícea, ya que dicha morfología de los frústulos ha sido y es un eje fundamental en cuanto a la identificación y clasificación de diatomeas. Existen distintos métodos para lograr dicha oxidación, su elección dependerá del grado de silificación de los organismos presentes en la muestra y de la necesidad que se tenga de contar con frústulos completos (Ferrario y col. 1995).

Como fue mencionado más arriba, las muestras de fitoplancton fueron tratadas siguiendo el protocolo de Hasle y Fryxell 1970. Las muestras utilizadas para llevar a cabo dicho protocolo de oxidación fueron provenientes de las siguientes estaciones de muestreo: Riacho, Larralde, y 2 de la estación Rada Tilly pero con diferentes fechas de muestreo. Las cuales son indicadas en la Figura N° 1 (Estaciones de muestreo del Plan Provincial de Control y Prevención de Marea Roja).

Una vez obtenidas las muestras oxidadas se procedió a su montaje para ser poder ser transportadas y analizadas en Aluminio Argentino (ALUAR) mediante el MEB (Microscopio Electrónico de Barrido) realizando las técnicas descriptas anteriormente.

Identificación de dinoflagelados

Se realizó la técnica de separación de placas siguiendo el método de hipoclorito de sodio explicado con anterioridad. Con bibliografía de consulta se logró la identificación de algunas de las placas tcales Figura N° 16.

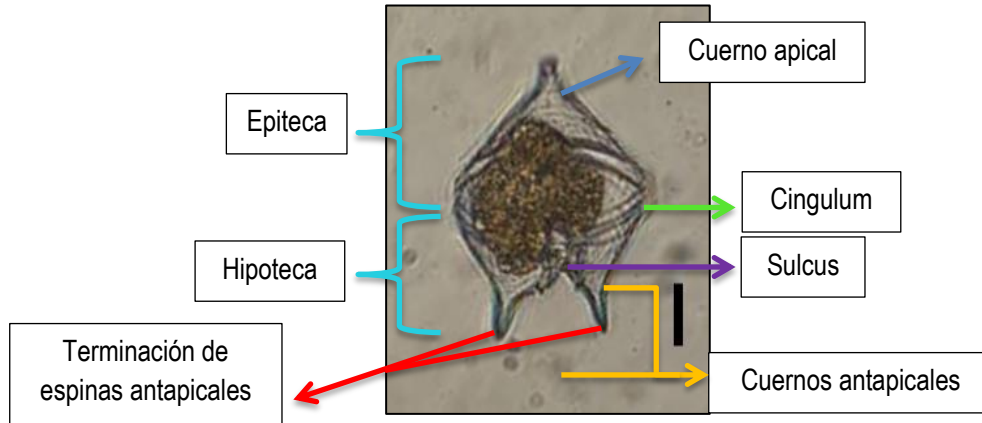


Figura N° 14: Ejemplar de la especie *Protoperidinium divergens*, con indicación de sus partes previo a la aplicación de Hipoclorito. Estación de muestreo Belvedere. Escala: 20 μ

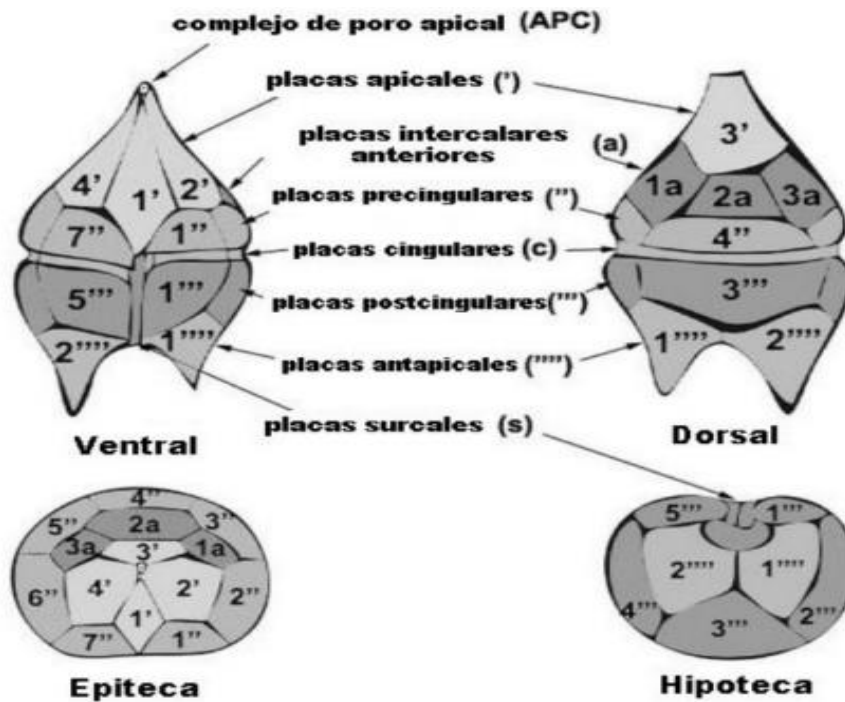


Figura N° 15: Esquema de tabulación de placas tcales de dinoflagelados. Tomado de Villaraa 2017.

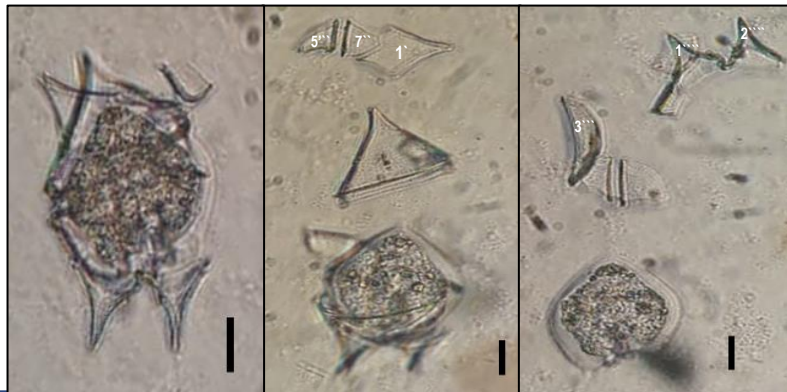


Figura N° 16: Técnica de Hipoclorito de sodio aplicada en *Protoperdinium divergens* con reconocimiento de placas tecales. Estación de muestreo Belvedere. Escala: 20 μ .

- De las especies de fitoplancton identificadas en las muestras obtenidas de los diversos muestreos 33 corresponden a la división Bacillariophyta, 14 a la división Dinophyta, y 1 a la división Ochrophyta. El Gráfico N° 1 es una representación porcentual de dichas especies, mostrando la dominancia de la división Bacillariophyta. En la Tabla N° 1 se mencionan las especies identificadas y sus fichas descriptivas se encuentran en el ANEXO 1.

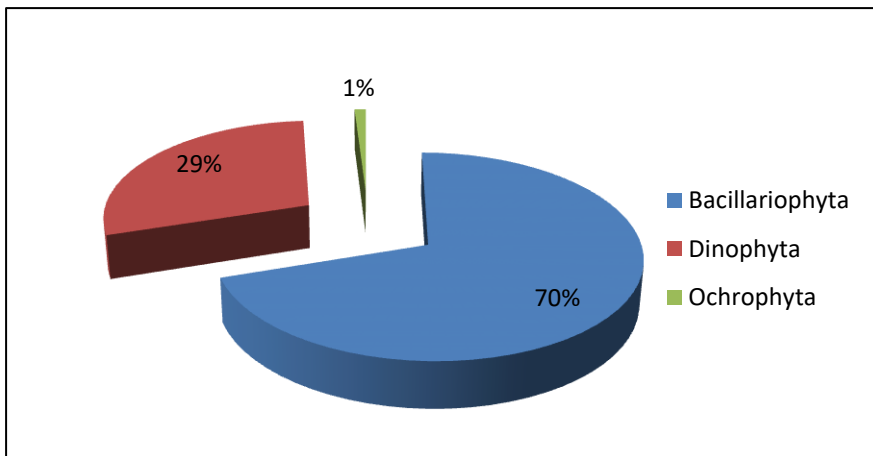


Gráfico N° 1: Representación porcentual de las especies identificadas correspondientes a las diferentes Divisiones Bacillariophyta, Dinophyta y Ochrophyta.

Bacillariophyta	Dinophyta
<p><i>Asterionellopsis glacialis</i> (Castracane) Ronda 1990 <i>Biddulphia alternans</i> (Bailey) Van Heurck 1885 <i>Chaetoceros decipiens</i> Cleve 1873 <i>Chaetoceros peruvianus</i> Brightwell 1856 <i>Chaetoceros lorenzianus</i> Grunow 1863 <i>Chaetoceros danicus</i> Cleve 1889 <i>Chaetoceros socialis</i> H.S.Lauder 1864 <i>Delphineis surirella</i> (Ehrenberg) G.W.Andrews 1981 <i>Detonula pumila</i> (Castracane) Gran 1900 <i>Eucampia zodiacus</i> Ehrenberg 1839 <i>Grammatophora marina</i> (Lyngbye) Kützing 1844 <i>Leptocylindrus danicus</i> Cleve 1889 <i>Leptocylindrus minimus</i> Gran 1915 <i>Licmophora flabellata</i> (Greville)C.Agardh 1831 <i>Licmophora abbreviata</i> C.Agardh 1831 <i>Lithodesmium undulatum</i> Ehrenberg 1839 <i>Melosira nummuloides</i> C.Agardh 1824 <i>Navícula</i> sp <i>Odontella obtusa</i> Kützing 1844 <i>Paralia sulcata</i> (Ehrenberg) Cleve 1873 <i>Pleurosigma decorum</i> W.Smith 1853 <i>Pseudo-nitzschia</i> aff. <i>Calliantha</i> Moestrup et Hasle 2003 <i>Pseudo-nitzschia australis</i> Frenguelli 1939 <i>Pseudonitzschia pungens</i> Hasle 1993 <i>Rabdonema adriaticum</i> Kützing 1844 <i>Rhizosolenia imbricata</i> Brightwell 1858 <i>Stephanopyxis nipponica</i> Gran & Yendo 1914 <i>Stephanopyxis turris</i> (Greville) Ralfs 1861 <i>Sundstroemia setigera</i> (Brightwell) Medlin 2021 <i>Thalassiosira gravida</i> Cleve 1896 <i>Thalassionema nitzschioides</i> Grunow ex Mereschkowsky, 1902 <i>Trieres chinensis</i> (Greville) Ashworth & E.C.Theriot 2013 <i>Trieres mobiliensis</i> (Bailey) Ashworth & Theriot 2013</p>	<p><i>Alexandrium catenella</i> (Whedon y Kofoid) Balech 1985 <i>Dinophysis acuminata</i> Claparede & Lachmann 1859 <i>Dinophysis tripos</i> Gourret 1883 <i>Preperidinium meunieri</i> (Pavillard) Elbrächter 1993 <i>Prorocentrum micans</i> Ehrenberg 1834 <i>Protoperidinium pallidum</i> (Ostenfeld) Balech 1973 <i>Protoperidinium divergens</i> (Ehrenberg) Balech 1974 <i>Protoperidinium aff punctulatum</i> (Paulsen) Balech 1974 <i>Protoperidinium</i> sp <i>Scrippsiella acuminata</i> (Ehrenberg) Kretschmann, Elbrächter, Zinssmeister, S.Soehner, Kirsch, Kusber & Gottschling 2015 <i>Tripos eugrammus</i> (Ehrenberg 1860) F.Gómez 2013 <i>Tripos furca</i> (Ehrenberg 1833) F.Gómez 2013 <i>Tripos muelleri</i> Bory 1826</p> <p style="text-align: center;">Ochrophyta</p> <p><i>Octactis speculum</i> (Ehrenberg) F.H.Chang, J.M.Grieve & J.E.Sutherland 2017</p>

Tabla Nº 1: Especies identificadas pertenecientes a la división Bacillariophyta, Dinophyta y Ochrophyta.

VI-VII. Cultivos

Se denomina medio de cultivo a cualquier material que presente una adecuada combinación de los requerimientos mínimos de la especie a cultivar, tales como sales minerales, nitrógeno, pH adecuado, y en algunos casos compuestos orgánicos y factores de crecimiento (vitaminas), para permitir el crecimiento o el incremento del número de células de una población (Ferrario y col 1995). Al contar con la presencia de diferentes especies pertenecientes tanto a Dinoflagelados como a Diatomeas se utilizaron distintos medios de cultivo, debido a que estas dos poseen requerimientos diferentes para su crecimiento, en este caso los medios elegidos fueron:

- Dinoflagelados: medio f/2 modificado sin silicato de acuerdo a (Guillard 1975).
- Diatomeas: medio f/2 (Guillard 1975).

Antes de comenzar con las técnicas de aislamiento se llevó a cabo la esterilización de los insumos a utilizar mediante el uso de autoclave siguiendo el protocolo presente en el Laboratorio de Fitoplancton, el cual permite a través de alta presión y vapor, matar microorganismos, incluidos virus y bacterias peligrosos, así como todas sus formas de esporas, que puedan llegar a interferir en los cultivos. También se confeccionaron tapones tanto para los tubos de ensayos como para los Erlenmeyer que se fueran a usar de manera que se lleve a cabo el intercambio gaseoso y mantener el cultivo con el nivel de oxígeno adecuado.

MEDIO f/2 (Guillard 1975)

Este medio fue preparado con agua de mar envejecida colectada en sitios alejados de la influencia de la zona costera, la cual fue filtrada utilizando filtros GE Nitrocelulosa de 0,45 micrón de poro.

Soluciones Stock de Macronutrientes

NaNO₃	7,5 g/100ml
NaH₂PO₄ · H₂O	0,5 g / 100 ml
Na₂SiO₃ · 9H₂O	1,0 g / 100 ml

Solución Stock Elementos en Traza (Micronutrientes)

CuSO₄ · 5H₂O	0,98 g
ZnSO₄ · 7H₂O	2,20 g
CoCl₂ · H₂O	1,05 g
MnCl₂ · 4H₂O	18,0 g
Na₂MoO₄ · H₂O	0,63 g

- Diluir y completar con agua destilada hasta 100ml.
- Solución de metales en traza utilizando cloruro férrico y sodio-EDTA.

Disolver 3,15 g de FeCl₃ · 6H₂O y 4,36 g de Na₂EDTA en 900 ml de agua destilada; adicionar 1ml de cada solución stock de metal traza y llevar a 1000ml. El pH de esa solución es de alrededor de 2,0. El pH puede ser elevado a 4,5 si se agregan 7 ml de NaOH 1N, formándose un precipitado.

Solución Stock Primario de Vitaminas

Biotina 0,1 mg/ml

10 mg + 96 ml de agua destilada (Filtre por Millipore 0,2µm y mantenga la solución estéril refrigerada)

Vit B₁₂ 1,0 mg /ml (Filtre por Millipore y mantenga la solución estéril refrigerada)

Vitaminas: solución de trabajo

- Llevar 1 ml de solución stock de biotina y 0,1 ml de solución stock de vitamina B₁₂ a 100 ml con agua destilada.
- Agregar 20 mg de tiamina HCl
- Llevar esta solución a frascos de 10 ml que se guardan en el freezer.

Para obtener 1 litro de f/2 proceda de la siguiente manera:

- 1ml de cada solución Stock de macronutrientes
- 1 ml de la solución Stock de metales en traza
- 0,5 ml de solución de trabajo de vitaminas
- Agregar agua de mar filtrada (0,45 µm) hasta completar 1 litro
- Esterilizar en autoclave por 15 min.

Una vez elaborado, se esterilizó en autoclave siguiendo el protocolo de uso a 121 °C de temperatura y 1,05 Kg m² de presión, durante 30 minutos, una vez que el medio ya se encontraba a temperatura ambiente se procedió a su uso.

Se partió de muestras recolectadas de fitoplancton en estado vivo y fijo, las cuales fueron mantenidas en cámara de cultivo y crecimiento con control de temperatura (13 °C) y ciclos de luz 12:12 con reloj de tiempo real en el Laboratorio de Fitoplancton del Instituto de Investigación de Hidrobiología de la Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud (FCNyCS) de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), en un lugar oscuro y seco respectivamente hasta su posterior uso.

Los diferentes aislamientos fueron obtenidos utilizando el método de pipeteo y lavados sucesivos descritos por Ferrario y col. 1995. Si bien el método descrito utiliza como herramienta de aislamiento la pipeta Pasteur, en este caso se utilizaron capilares pero el procedimiento para su preparación fue el mismo: se tomó el capilar estéril, se sostuvo desde uno de sus extremos utilizando una pinza de manera que el otro extremo quedara sobre la llama del mechero, una vez que el vidrio comenzaba a ponerse blando, suavemente se estira la punta utilizando otra pinza y se retira de la llama, este procedimiento debió realizarse con sumo cuidado, buscando que la abertura sea solo un poco más grande que el organismo a aislar, evitando así la entrada de muestra excesiva (líquido y organismos); y a su vez evitando que la punta se rompa. La abertura realizada fue analizada bajo microscopio y en el caso de no haber obtenido los resultados esperados se volvió a repetir el procedimiento hasta lograrlo.

Para picar la célula se colocó una gota en un portaobjetos, se identificó el organismo de interés y se realizó el pipeteo. Una vez obtenidos los ejemplares fueron lavados sucesivas veces con medio de cultivo con el fin de obtener una muestra más limpia, sin contaminación con otros organismos. A continuación, se colocaron las células obtenidas en tubos de ensayo de centrifuga. Se siguió el crecimiento del cultivo y una vez que la abundancia de las células aumentó los cultivos fueron llevando a mayores volúmenes desde tubos de ensayo hasta llegar a matraces Erlenmeyer de 250 ml, empleando medio de cultivo f/2 con o sin adición de silicatos (Guillard 1975), según la especie lo demandara.

Los cultivos llevados a cabo en este trabajo se mantuvieron en cámara de cultivo y crecimiento con control de temperatura (13 °C) y ciclos de luz 12:12 con reloj de tiempo real, los cuales todos los días se homogeneizaban mediante movimientos manuales suaves. Para la manipulación y mantenimiento de dichos cultivos se llevaron a cabo las técnicas de repiques de los cultivos a nuevos medios de manera que la especie cuente con los requerimientos para continuar el crecimiento.

Cultivos obtenidos

Se llegó a tener un aproximado de 90 cultivos en aislamiento en tubos de ensayo, de los cuales una proporción pertenecían a monocultivos, es decir a un cultivo de una sola especie, y otros a cultivos mixtos, es decir conjunto de diferentes especies de una muestra en un mismo cultivo. En cuanto a los cultivos en Erlenmeyer se llegó a tener un total de 20 cultivos pertenecientes a 4 especies distintas con sus respectivas réplicas. En caso de contaminación con las amebas, nano flagelados, flagelados de mayor dimensión, o simplemente la muerte de la especie de importancia se procedió a su descarte.

Las especies que se lograron aislar fueron:

- *Melosira nummuloides*
- *Prorocentrum micans*
- *Navicula* sp.
- *Scrippsiella acuminata*
- *Alexandrium catenella* (complejo tamarense).



Figura N° 17: MO. *Melosira nummuloides*.
A Vista general del cultivo.
B Vista de dos células unidas.
Aislamiento proveniente de la estación Pardelas.
Aumento A=20x. Escala B= 12,5 μ m

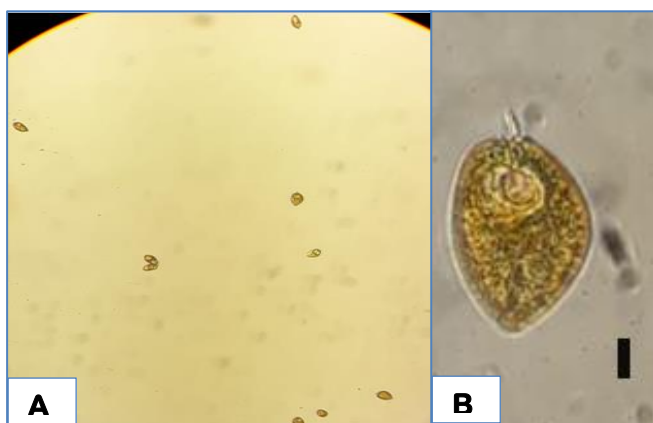
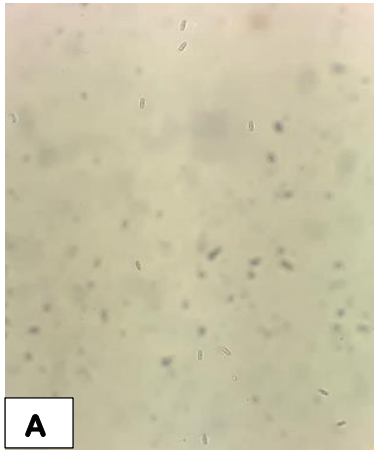


Figura N° 18: MO. *Prorocentrum micans*.
A Vista general del cultivo.
B Vista de general de un individuo.
Aislamiento proveniente de la estación Bengoa.
Aumento A=10x. Escala B= 10 μ m

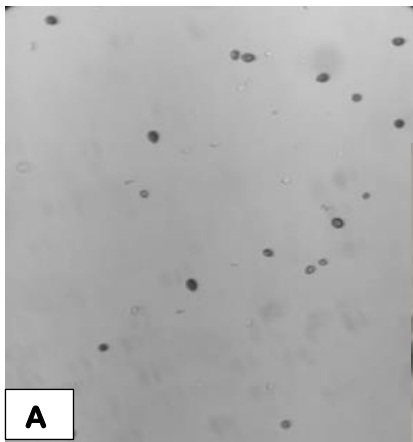


A



B

Figura N° 19: MO. *Navicula sp.*
A Vista general del cultivo.
B Vista de general de un individuo.
Aislamiento proveniente de la estación Riacho.
Aumento A=10x. Escala B= 2,5 μ m

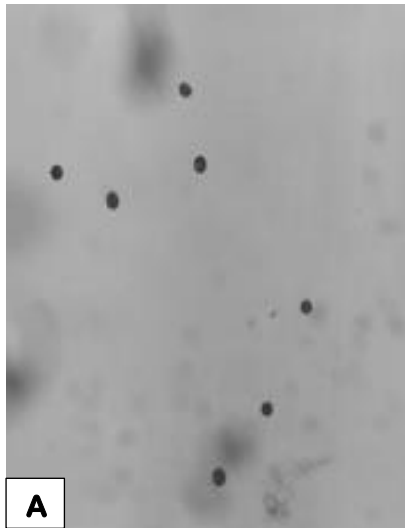


A



B

Figura N° 20: MO. *Scrippsiella acuminata.*
A Vista general del cultivo.
B Vista de general de un individuo.
Aislamiento proveniente de la estación Pardelas.
Aumento A=10x. Escala B= 10 μ m



A



B

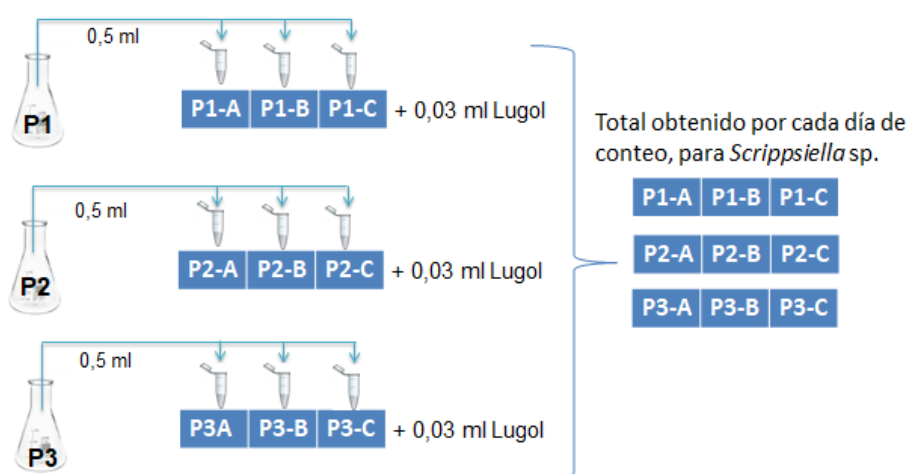
Figura N° 21: MO. *Alexandrium catenella.*
A Vista general del cultivo.
B Vista de general de un individuo.
Aislamiento proveniente de la estación Bengoa.
Aumento A=10x. Escala B= 10 μ m

Curvas de crecimiento

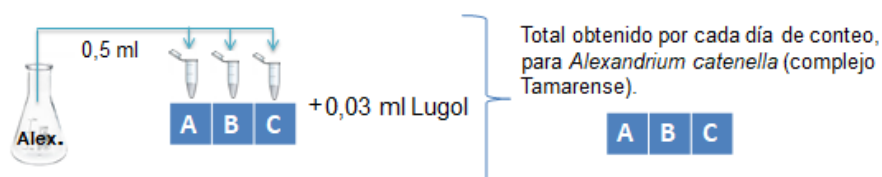
Se llevó a cabo las curvas de crecimiento de *Scrippsiella acuminata* y *Alexandrium catenella* (complejo tamarense). Las muestras utilizadas para aislar las células para los cultivos se recolectaron en dos estaciones costeras de la provincia del Chubut, dichas estaciones costeras fueron Pardelas (en el Golfo Nuevo) para *Scrippsiella acuminata* y Bengoa (Golfo San José) para *Alexandrium catenella* (complejo tamarense), las cuales se pueden apreciar en la Figura N°1 (estaciones de muestreo del Plan Provincial de Control y Prevención de Marea Roja).

Diseño experimental

Para los ensayos de crecimiento de *Scrippsiella acuminata*, se realizaron 3 réplicas en Erlenmeyer de 250 ml con 200 ml de medio f/2. Se inició a partir de inóculos de aproximadamente 500 cél/ml en cada uno (P1, P2, P3) de los cuales se obtuvieron 3 réplicas de cada uno (A, B y C) durante 48 días.



En el caso de *Alexandrium catenella* (complejo tamarense) se realizaron réplicas A, B, C de un Erlenmeyer de 250 ml con 200 ml de medio f/2 e inóculos de aproximadamente 500 cél/ml en cada uno, durante 45 días.

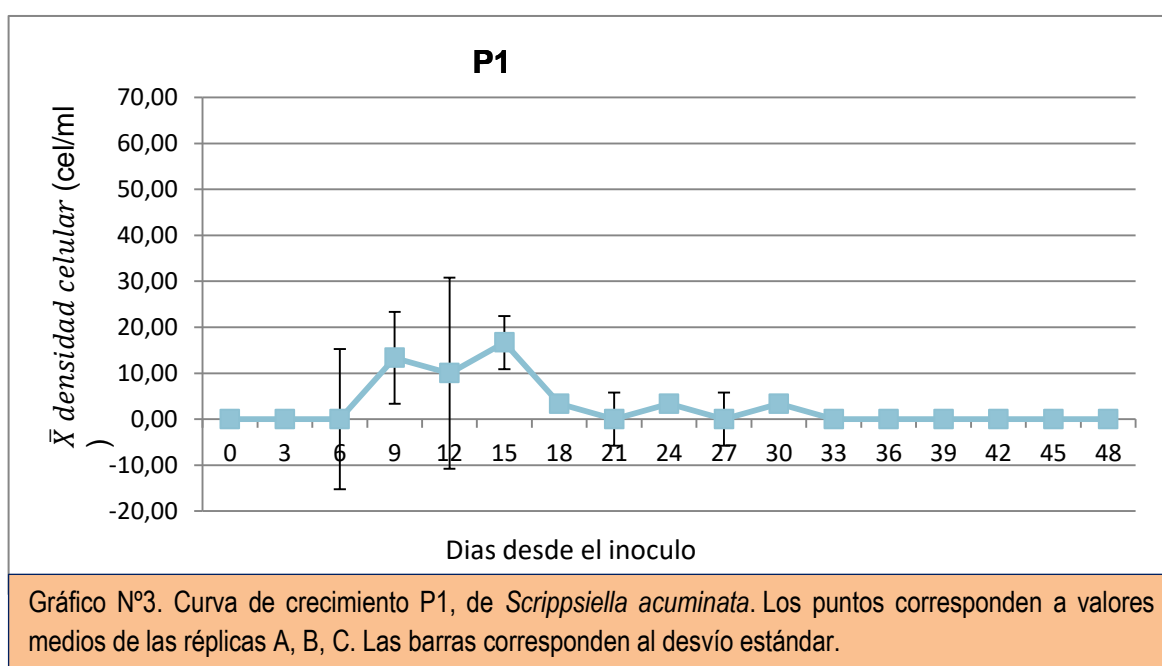
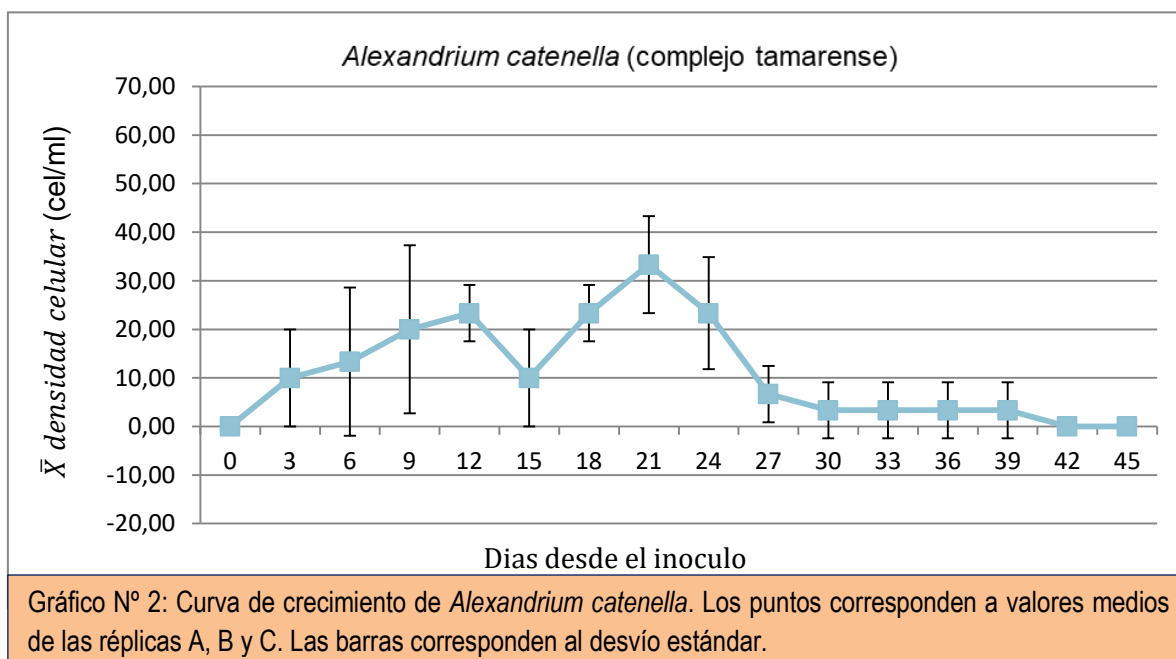


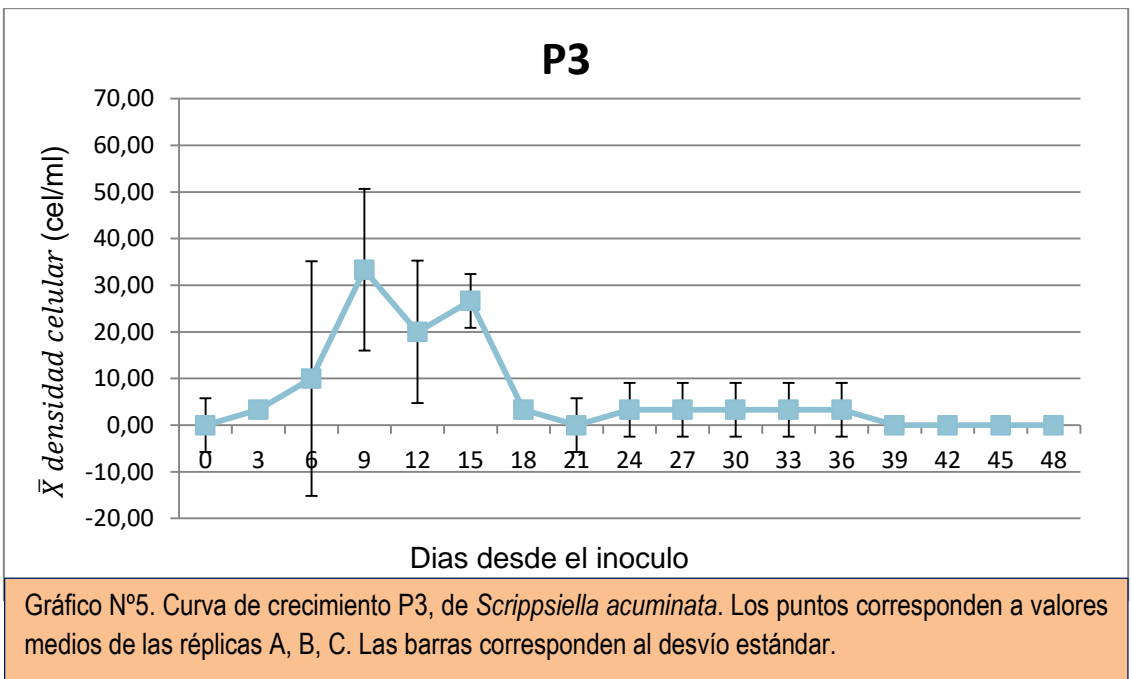
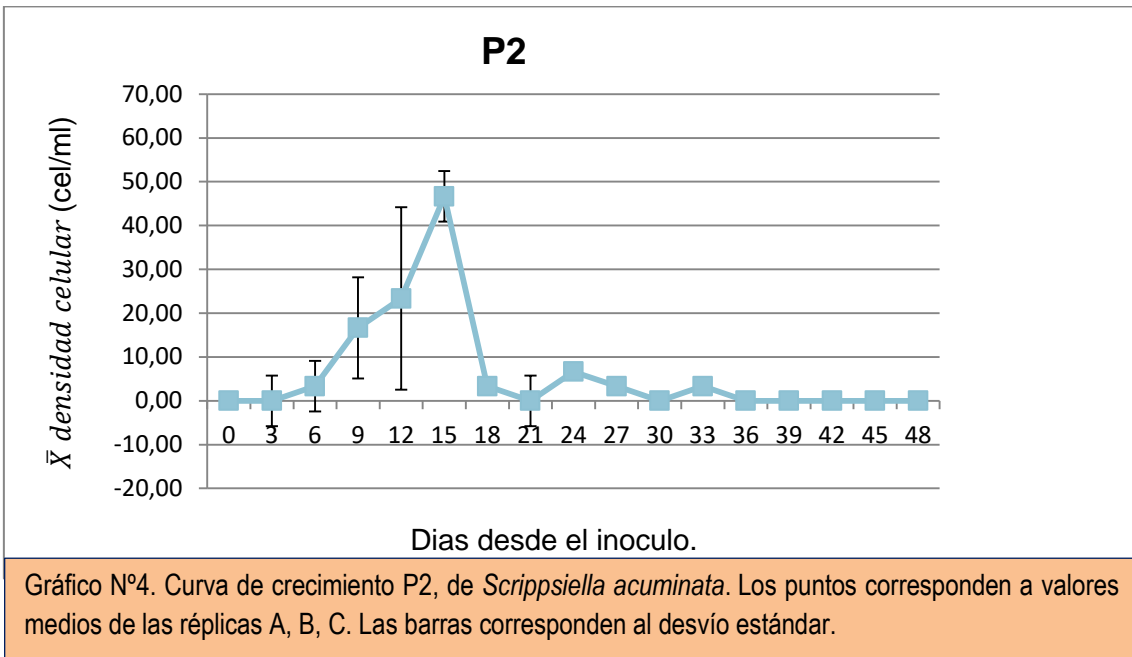
Para ambas especies cada 3 días se tomaron muestras por triplicado de 0,50 ml de cada uno de los tratamientos y se fijaron con 0,003 ml de Lugol. El recuento se realizó en una cámara Palmer Maloney utilizando un microscopio óptico invertido Leitz DMIL para determinar la densidad celular. En ambos casos se realizó un conteo de cámara completa y al contar con 3 réplicas cada uno se consideró un valor promedio de estos para realizar las curvas de crecimiento y en caso de ser necesario se redondeó dicho valor para abajo, al momento de la cuantificación en ambos tratamientos no se tomaron en cuenta los quistes presentes, es decir solo se contaron las células vegetativas.

Resultados obtenidos

Para la muestra de Bengoa correspondiente a la especie *Alexandrium catenella* alcanzó la máxima densidad celular promedio el día 21 con 33 cél/ml como se observa en el Gráfico N°2.

En cuanto a la muestra de Pardelas correspondiente a *Scrippsiella acuminata* P1 alcanzó la máxima densidad celular promedio el día 15 con 16,66 cél/ml, P2 alcanzó la máxima densidad celular promedio el día 15 con 46,66 cél/ml y P3 alcanzó la máxima densidad celular promedio el día 9 con 33,33 cél/ml como se muestran en los gráficos N° 3, 4 y 5 respectivamente.





Se observa en los Gráficos N° 2, 3, 4 y 5 que hay disminuciones en los promedios de las densidades celulares. Esto puede deberse a que la cámara de cultivo sufrió varios aumentos de temperatura, debido a cortes de luz no programados, superando en estas ocasiones el rango de tolerancia óptimo.

Actividades de formación realizadas durante la Práctica Profesional

El proyecto de Práctica Profesional fue presentado ante Secretaría de Ciencia, Tecnología, Innovación Productiva y Cultura, dentro del marco de Convocatoria de Tesis y Proyectos finales 2021, siendo este mediante la resolución N°79/2021 SCTIPyC uno de los beneficiarios a beca.

Dentro del marco de dicha Práctica Profesional se realizaron diversos cursos/talleres a fin de un mejor conocimiento y capacitación en cuanto a los temas abarcados, estos fueron:

- **Monitoreo de Floraciones Algales Nocivas y Ficotoxinas en aguas costeras marinas.** Organizado por “Universidad Nacional de la Patagonia “San Juan Bosco”. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Realizado los días 5, 6, 7 de Octubre del 2021.

Abarcó presentaciones teóricas que dieron un panorama general de las FAN y a su vez la situación en la Costa Patagónica, como así también del monitoreo que se lleva adelante para prevenir los efectos negativos que esta pueda llegar a tener. Esta teoría fue acompañada de salidas prácticas, una de ellas fue con el objetivo de manipulación de red y botella que se emplean en el monitoreo, posterior a la charla con los encargados de realizar este trabajo. Y la otra fue hacia el bioterio de Dirección de Ambiente de Trelew en donde pudimos presenciar los pasos completos a seguir en la detección de las toxinas diarreica y paralizante de moluscos.

- **Dinoflagelados marinos con énfasis en especies epibentónicas tóxicas y nocivas”.** Evento organizado, en formato virtual. Realizado por FitoLand E.I.R.L. Realizado los días 17, 18 y 19 de Diciembre del 2021. País organizador Perú.

Basado en aspectos básicos referidos a la comunidad fitoplanctonica (hábitos, métodos de muestreos, métodos de cuantificación), aplicados a la taxonomía de dinoflagelados tóxicos y nocivos y a las características generales y toxinas producidas por estos dinoflagelados pertenecientes a la división Dinophyta. Se dio por concluido con una presentación de Floraciones algales nocivas producidas por dinoflagelados epibentónicos.

- **Workshop on Bivalve Molluscs Sanitation for FAO Latin America and The Caribbean Region”.** Evento organizado en formato virtual por Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) y Centre for Environment Fisheries y Acuaculture Science (Cefas). Realizado los días 2, 3, 4 de Noviembre del 2021.

Basado en la importancia global de moluscos bivalvos como productos alimenticios seguros y sostenibles, orientación técnica FAO/OMS para el desarrollo de los aspectos relativos a las zonas de cría de los programas de saneamiento de moluscos bivalvos. Principales peligros microbiológicos basados en el riesgo para la identificación de peligros, la evaluación y el monitoreo que se requiere para controlar a los patógenos microbiológicos y biotoxinas en áreas de cultivo y categorización de las áreas de cultivo según el riesgo, la generación de datos en los laboratorios y la evaluación de los datos.

A su vez se realizaron sesiones prácticas en grupos en las cuales se realizaban ejercicios cuyo fin fue proporcionar herramientas para afrontar un brote de enfermedades transmitidas por los alimentos evaluando una potencial área de cultivo, como así también el manejo y evaluación de datos para la categorización de áreas de cultivo mediante la utilización de las normas ISO.

- **Webinar Gratuito de "Floraciones Algales Nocivas.** Evento organizado, en formato virtual. Realizado por FitoLand E.I.R.L. Realizado los días 17 y 18 y 19 de Enero del 2022. País organizador Perú.

Abarcó la problemática de las FANs en la Industria Salmonera en Chile y una descripción de forma, alimento y sexo pertenecientes a *Dinophysis*.

Bibliografía

- Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1.
- Cadaillón A., 2011. Técnicas de laboratorio para análisis de Fitoplancton. Trabajo de Capacitación en Terreno y/o laboratorio.
- Cefarelli A., y col. 2015. Diatoms (Bacillariophyceae) associated with free-drifting Antarctic icebergs: taxonomy and distribution. Polar Biol.
- Dale B., y col. 2003. Climate change and harmful Algal Blooms. In Granéli, E., J. T. Turner (Eds.). Ecology of Harmful Algae: 1-413, Springer Berlin.
- Ferrario M., y col. 2019. Bacillariophyceae. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la Provincia de Chubut Editor Sastre, Viviana. Cap. 4. pag. 73-95.
- Ferrario M., y col. 1995. Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. Manual de Métodos Ficológicos. Universidad de Concepción Chile. Cap.1 pag 10-12.
- Ferrario M., 1984. Diatomeas Centrales de la ría de Puerto Deseado, Santa Cruz, Argentina. Coscinodisciineae familia Hemliscaceae y familia Melosiraceae. Tomo XIII. Botánica N° 48.
- Ferrario M., y col. 2012. *Stephanopyxis species* (Bacillariophyceae) from shelf and slope waters of the Argentinean Sea: Ultrastructure and distribution. Nova Hedwigia Vol. 96 issue 1–2, 249–263.
- Gómez F., 2020. Speciation and infrageneric classification in the planktonic dinoflagellate *Tripos* (Gonyaulacales, Dinophyceae) ScienceOpen Preprints.
- González M., y col. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas en laboratorio. Manual de Métodos Ficológicos. Capítulo 12. Editores Alvear K., Ferrario M., Universidad de Concepción. Concepción, Chile. Primera Edición.
- González L., 2021. Floraciones algales nocivas (FAN) producidas por dinoflagelados bentónicos. Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar. Universidad de Oriente. Venezuela.
- Guillard L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. . En Smith, W.L., Chanley, M.H (Eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA. pp 26 – 60.
- Graham L., y col. 2000. Algae. Prentice-Hall, Upper Saddle River, 640 pp.
- Hallegraef G., 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. Phycology 32:79-99.
- Hasle G., y col. 1970. Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy. Transactions of the American Microscopical Society 89: 469-474.
- Hasle G., 1978. Some specific preparations: Diatoms. In A. Sournia (ed.). Phytoplankton manual. UNESCO. Paris. 136-142.
- Kretschmann J., y col. 2015. Taxonomic clarification of the dinophyte *Peridinium acuminatum* Ehrenb., *Scrippsiella acuminata*, comb. nov. (Thoracosphaeraceae, Peridinales). Phytotaxa 220 (3): 239–256.
- Lagos N., 2002. Principales toxinas de origen fitoplanctónico: identificación y cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Floraciones algales nocivas en el Cono Sur Americano Sar, E.A., M.E. Ferrario & B. Reguera Instituto Español de Oceanografía.
- Lavigne y col. 2015. Análisis morfológico, taxonómico y nomenclatural de especies de *Odontella*, *Trieres* y *Zygoceros* (*Triceratiaceae*, *Bacillariophyta*) de la Bahía de Anegada (Provincia de Buenos Aires, Argentina).
- Lee J., y col. 1989. Determination of diarrhetic shellfish toxins in various dinoflagellate species. Journal of Applied Phycology 1(2): 147-152.

- Lewis M., y col. 2015. Características ambientales del ecosistema Golfos San José y San Matías mediante datos de campañas oceanográficas históricas. Informe Final Técnico y Financiero. Cenpat Conicet.
- Luna L., 2007. Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. Revista Cubana de Química, vol. XIX, núm. 2, pp. 3-20
- Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.
- Ramos V., 2015. Evolución de la cuenca golfo San Jorge: su estructuración y régimen tectónico. Rev. Asoc. Geol. Argent. vol.72 no.1 Buenos Aires mar.
- Reguera B., 2002. Establecimiento de un programa de seguimiento de microalgas tóxicas. Floraciones Algaes Nocivas en el Cono Sur Americano, 21-54. Instituto Español de Oceanografía.
- Reguera B., y col. 2011. Guía para el diseño y puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas. COI de UNESCO y OIEA, Paris y Viena 2011. Manuales y Guías de la COI, 59 (65).
- Rey J., 2011. Las Mareas Rojas. Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas – Universidad de la Florida (UF/IUFAS).
- Santinelli N., 2008. Fitoplancton de un ambiente costero sometido a perturbación antrópica: Bahía Nueva, Provincia de Chubut. Tesis Doctor en Ciencias Biológicas.
- Santinelli N., y col. 2002. Episodios de algas nocivas en la Patagonia Argentina. En: Sar EA, Ferrario ME, Reguera B (Eds), Floraciones Algaes Nocivas en el Cono Sur Americano. Instituto Español Oceanográfico de Madrid, Vigo, pp. 199–208.
- Santinelli N., 2021. Floraciones algales nocivas (FAN) su impacto en la salud y en los recursos. Taller “Monitoreo de Floraciones Algaes Nocivas y Ficotoxinas en aguas costeras marinas”. Laboratorio de Hidrobiología. Facultad de Ciencias Naturales Sede Trelew-UNPSJB.
- Sar E., y col. 2007. Marine Diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). II Thalassionemataceae and Rhabdionemataceae. Revista Chilena de Historia Natural 80(1):63-79.
- Sastre V., y col. 2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut.
- Suarez B., y col. 2005. Floraciones de Algas Nocivas, Mareas Rojas y Toxinas Marinas. Editorial Universitaria. Universidad de California.
- Sar E., y col. 2013. Diatomeas de ambientes marinos costeros de Argentina. Especies del género *Pleurosigma* (Pleurosigmataceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 48 (1): 17-51.
- Sunesen I., y col. 2008. Diatomeas marinas de aguas costeras de Buenos Aires (Argentina). V. Especies del género *Chaetoceros*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(2): 303-326.
- Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(1): 67-88.
- Sunesen I., Sar E. 2007. Marine diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). IV. *Rhizosolenia s. str.*, *Neocalyptrella*, *Pseudosolenia*, *Proboscia*.
- Smayda J., 1997. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. Limnol. Oceanogr. 42: 1137-1153.
- Tomas R., 1997. Identifying Marine Phytoplankton. Academic Press.
- Vecchio J., y col. 1986. Intoxicación por V.P.M. (Marea Roja). Medicina 6: 705-707.
- Villafañe, V., y col. 1995. Métodos de microscopía para la cuantificación del fitoplancton. En: Alveal, K., M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar (eds.) Manual de Métodos Ficológicos. Universidad de Concepción: 169-186.
- Villalobos L., 2017. Evaluación de las Floraciones Algaes Nocivas en las costas de la provincia del Chubut y su impacto en las pesquerías de moluscos bivalvos. Tesis Doctoral en Ciencias, área Biología.

- Villaraga M., 2017. Dinoflagelados Potencialmente Tóxicos asociados a Macroalgas en la Bahía de la Paz. Tesis para maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Bacillariophyta

***Chaetoceros decipiens* Cleve 1873**

División Bacillariophyta

Clase Mediophyceae

Género *Chaetoceros*Especie *Chaetoceros decipiens*

Células en cadenas largas. Aberturas angostas a amplias y elípticas. Frústulos rectangulares. Setas largas, delgadas y rectas con pequeñas espinas. Setas intercalares fusionadas por una larga distancia. Setas terminales más gruesas que las intercalares.

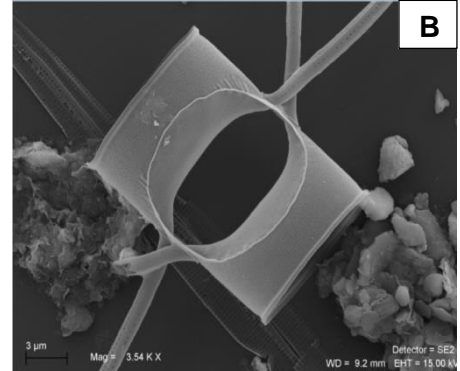
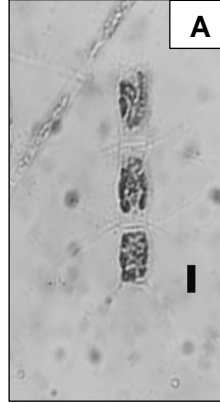


Fig N°22. *Chaetoceros decipiens*. A. MO. Vista de una cadena. B. MEB. Vista general. A y B. Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala A = 10 µm y B= 3 µm.**

Fuente: Sunesen I., y col. 2008. Diatomeas marinas de aguas costeras de Buenos Aires (Argentina). V. Especies del género *Chaetoceros*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(2): 303-326.

***Chaetoceros peruvianus* Brightwell 1856**

División Bacillariophyta

Clase Mediophyceae

Género *Chaetoceros*Especie *Chaetoceros peruvianus*

Células solitarias. Frústulo cilíndrico en vista faja y valva posterior plana o cóncava. Manto alto con una constricción cerca del margen. Rimoportula en cada valva, ubicada excéntricamente en el anillo con tubo externo aplanado. Setas de la valva anterior fusionadas después de una base corta en el centro de la valva, setas de la valva posterior que surgen de las esquinas. Todas las setas dirigidas hacia el mismo extremo de la celda, gruesas (3-4 µm), de cuatro lados en sección transversal.



Fig N° 23. *Chaetoceros peruvianus*. MO. Vista general. Estación de muestreo Bengoa. **Escala = 12,5 µm**
Fuente: Sunesen I., y col. 2008. Diatomeas marinas de aguas costeras de Buenos Aires (Argentina). V. Especies del género *Chaetoceros*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(2): 303-326.

División Bacillariophyta
 Clase Mediophyceae
 Género *Chaetoceros*
 Especie *Chaetoceros lorenzianus*

Células en cadenas rectas o solitarias. Los polos adyacentes de las células se tocan. Frústulos rectangulares en vista de cintura. Setas intercalares que surgen de las esquinas de las valvas, fusionándose cerca del margen de la cadena, perpendiculares o divergiendo en un ángulo de 20-45° con respecto al eje de la cadena. Setas terminales en forma de U, dirigidas hacia el eje de la cadena. Fue reportado como productor de una gran mortandad de sardinas en el Golfo de Nicoya, en la costa Pacífico de Costa Rica a pesar de que no se observaron floraciones.



Fig N° 24. *Chaetoceros lorenzianus*. MO. Vista conectival. Caleta Patón. **Escala = 12,5 µm**

Fuente: Sunesen y col. 2008. Diatomeas marinas de aguas costeras de Buenos Aires (Argentina). V. Especies del género *Chaetoceros*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(2): 303-326.

Fuente: Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(1): 67-88.

División Bacillariophyta
 Clase Mediophyceae
 Género *Chaetoceros*
 Especie *Chaetoceros danicus*

Células solitarias o en cadenas cortas y rectas. Aperturas estrechas. Frústulos rectangulares en vista ceñida. Valvas de contorno elíptico a casi circular. Cara de valva plana a convexa, perforada por poroides. Manto alto con una constricción cerca del margen. Rimoportula en cada valva, ubicada en el centro, con un tubo corto, plano externamente y un orificio elíptico internamente. Setas largas y gruesas, que surgen de las esquinas de las valvas, circulares en sección transversal en la base y cuadrangulares a poligonales distalmente, con estrías transversales y costillas longitudinales con espinas). Setas terminales divergentes perpendiculares al eje perivalvar.

Ha estado involucrado en la mortalidad masiva de peces por anoxia, debido al taponamiento branquial causado por la producción de moco generado en respuesta al daño de las espinas en las branquias



Fig N° 25. *Chaetoceros danicus*. MO. Vista valvar. Caleta Patón. **Escala = 10 µm**

Fuente: Sunesen I., y col. 2008. Diatomeas marinas de aguas costeras de Buenos Aires (Argentina). V. Especies del género *Chaetoceros*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(2): 303-326.

Chaetoceros socialis H.S.Lauder 1864**ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA**

División Bacillariophyta
 Clase Mediophyceae
 Género Chaetoceros
 Especie *Chaetoceros socialis*

Las setas largas y rectas dirigidas hacia el centro de las colonias globosas con pequeñas espinas dispuestas en filas espirales a lo largo de toda su longitud. Ha sido citada como una especie nociva, asociada a la producción de mucílagos, provocando taponamiento de branquias y anoxia en organismos bentónicos durante sus floraciones y en peces de cultivo y en organismos bentónicos (Smayda 2006). Clément & Lembeye (1993) señalaron que esta especie desarrolla intensas y largas floraciones en el área de Chiloé central, Chile, y que las floraciones ocasionalmente afectaron el apetito de peces en jaulas.

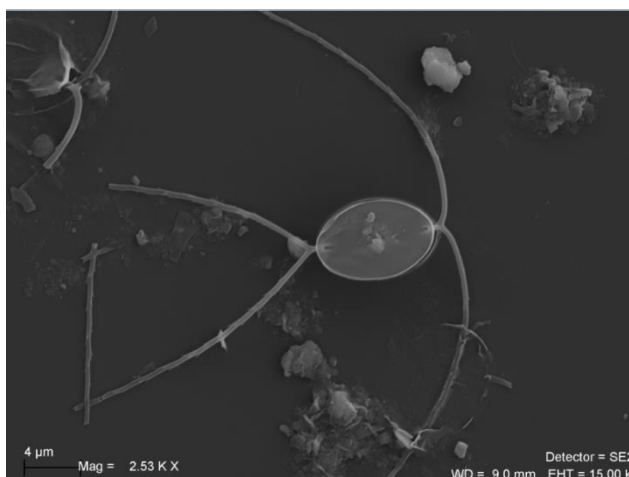


Fig N° 26. *Chaetoceros socialis*. MEB. Vista valvar. Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala = 4 μm**

Fuente: Sunesen I., y col. 2008. Diatomeas marinas de aguas costeras de Buenos Aires (Argentina). V. Especies del género *Chaetoceros*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(2): 303-326.

Fuente: Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(1): 67-88.

Leptocylindrus danicus Cleve 1889**ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA**

División Bacillariophyta
 Clase Mediophyceae
 Género *Leptocylindrus*
 Especie *Leptocylindrus danicus*

Células cilíndricas, angostas, alargadas, solitarias o reunidas en cadenas cortas, muy delicadas, poco silicificadas. Las uniones entre las células no son rectas sino que se ven redondeadas, cóncavas o convexas. Numerosos cloroplastos por célula. Valva circular, con la superficie valvar convexa o levemente cóncava y manto redondeado a vertical.

Parámetros morfométricos: diámetro 6-10 μm

Ha sido asociada a injurias mecánicas en organismos filtradores del área costera del Estado de Paraná, Brasil.



Fig N° 27. *Leptocylindrus danicus*. MO. A y B Vista conectival de células unidas en cadena por caras de valvas contiguas. A Estación de muestreo Rada Tilly. B Estación de muestreo 2Belvedere. **Escala A y B= 10μm**

Fuente: Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(1): 67-88.

División Bacillariophyta
Clase Mediophyceae
Género *Leptocylindrus*
Especie *Leptocylindrus minimus*

Células cilíndricas, muy angostas, alargadas, solitarias o reunidas en cadenas cortas. Dos cloroplastos por célula. Valva circular, con la superficie valvar convexa o levemente cóncava y manto redondeado a vertical.

Parámetros morfométricos: diámetro 1,7-4 μm .

Es una de las especies comúnmente productora de floraciones en aguas costeras y su presencia ha sido asociada a eventos de mortalidad de salmones en cautiverio en los fiordos del sur de Chile.

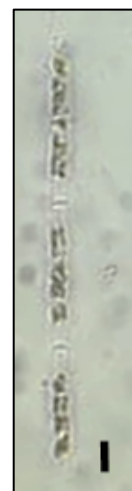


Fig N° 28. *Leptocylindrus minimus*. MO. Vista conectival de células unidas en cadena por caras de valvas contiguas. Estación de muestreo Bengoa. **Escala 5 μm** .

Fuente: Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(1): 67-88.

***Melosira nummuloides* C.Agardh 1824**

División Bacillariophyta
Clase Coscinodiscophyceae
Género *Melosira*
Especie *Melosira nummuloides*

Frústulos hemiesféricos reunidos entre sí por almohadillas centrales mucilaginosas. Valvas circulares, mostrando un característico collar sobre el manto valvar, el cual falta en el auxosporo y en las partes nuevas de la célula que recién se ha dividido. Está orientado en sentido contrario al del ápice de la célula que lo posee y es la característica sobresaliente de la especie. En vista conectival frústulos muy alargados, rectangulares.



Fig N° 29. *Melosira nummuloides*. MO. Vista general. A Estación de muestreo Pardelas. **Escala 12,5 μm**
Fuente: Ferrario M., 1984. Diatomeas Centrales de la ría de Puerto Deseado, Santa Cruz, Argentina. Coscinodiscineae familia Hemidiscaceae y familia Melosiraceae. Tomo XIII. Botánica N° 48.

Odontella obtusa Kützing 1844

División Bacillariophyta

Clase Mediophyceae

Género *Odontella*

Clase *Odontella obtusa*

Células ocasionalmente solitarias, usualmente ocurriendo en cadenas en zigzag unidas por las elevaciones con gruesas almohadillas de mucílago. Los frústulos están fuertemente silicificados y muestran una faja rectangular en una vista de faja amplia. Las valvas tienen una elevación en cada polo con un área central ligeramente inflada. Las elevaciones son cortas, obtusas, infladas en la base y ligeramente divergentes. Elevaciones oceladas muy robustas. Ocelos con diámetros grandes.

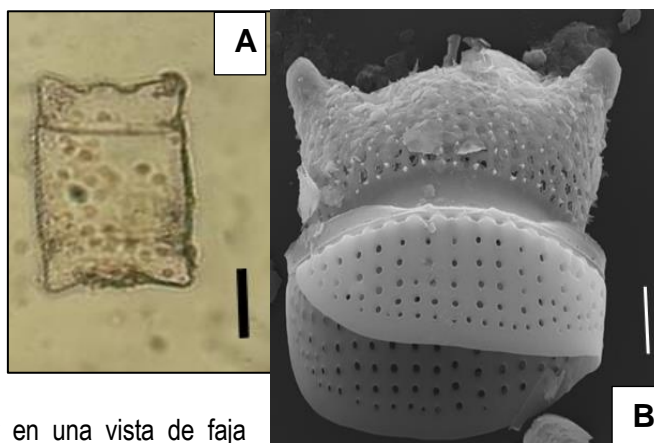


Fig Nº 30. *Odontella obtusa*. A. MO. Vista general. Estación de muestreo Patón. Escala 25 µm

B. MEB. Vista de una valva y una banda. Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala 2 µm**

Fuente: Lavigne y col. 2015. Análisis morfológico, taxonómico y nomenclatural de especies de *Odontella*, *Trieres* y *Zygoceros* (Triceratiaceae, Bacillariophyta) de la Bahía de Anegada (Provincia de Buenos Aires, Argentina).

Trieres chinensis (Greville) Ashworth & E.C.Theriot 2013

División Bacillariophyta

Género *Trieres*

Clase *Trieres chinensis*

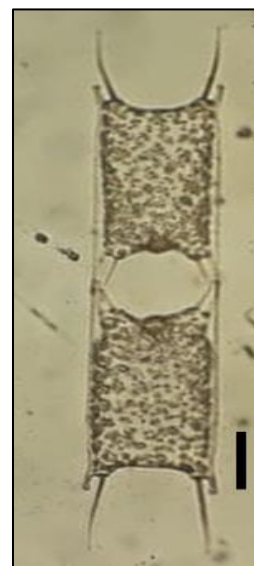
Las células son solitarias o frecuentemente unidas en largas cadenas por elevaciones. Una rimoportula ubicada en cada polo justo dentro y muy cerca de la elevación polar, con un larga externo tubo.

Las valvas son de contorno elíptico, con superficie de válvula delimitada desde el manto de la válvula por una sutil cresta que corre entre las elevaciones. La superficie de la válvula es cóncava y lineal con un anillo lineal. Las elevaciones llevan ocelos de diámetro pequeño, 2.0–3.7 µm, delimitado por un borde de sílice con varias espínulas alrededor.

Fig Nº 31. *Trieres sinensis*. MO. Vista general. Estación de muestreo Riacho.

Escala 51 µm.

Fuente: Lavigne y col. 2015. Análisis morfológico, taxonómico y nomenclatural de especies de *Odontella*, *Trieres* y *Zygoceros* (Triceratiaceae, Bacillariophyta) de la Bahía de Anegada (Provincia de Buenos Aires, Argentina).



***Trieres mobillensis* (Bailey) Ashworth & E.C.Theriot 2013**

División Bacillariophyta

Clase *Trieres*

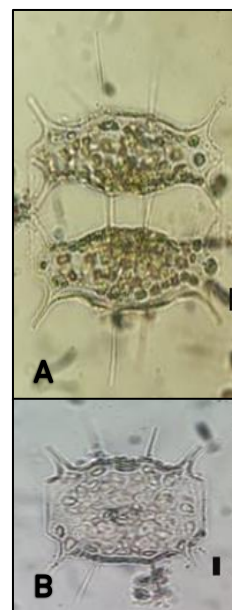
Género *Trieres mobillensis*

Las células son solitarias o unidas en cadenas cortas por elevaciones, con muchos, pequeños, cloroplastos discoides y un núcleo central. Las valvas son elípticas de contorno lanceolado, superficie delimitada desde el manto de la valva por una cresta ondulada que corre a lo largo de cada lado entre las bases de las elevaciones, y atravesado por delicadas costillas.

Las espínulas son dispersas irregularmente sobre la cara de la valva y el manto, en algunos especímenes, hay espinas dispersas irregularmente sobre la cara de la valva y elevaciones. Dos rimoportulas están situadas al lado del margen del anillo, orientado en diagonal con respecto al eje transapical.

Fig Nº 32. *Trieres mobillensis*. MO. A Vista general de dos individuos unidos. B Vista de ejemplar individual. A Estación de muestreo Bengoa. B Estación de muestreo Puerto Rawson. **Escala A y B 10 µm**

Fuente: Lavigne y col. 2015. Análisis morfológico, taxonómico y nomenclatural de especies de *Odontella*, *Trieres* y *Zygoceros* (Triceratiaceae, Bacillariophyta) de la Bahía de Anegada (Provincia de Buenos Aires, Argentina).



***Paralia sulcata* (Ehrenberg) Cleve 1873**

División Bacillariophyta

Clase Coscinodiscophyceae

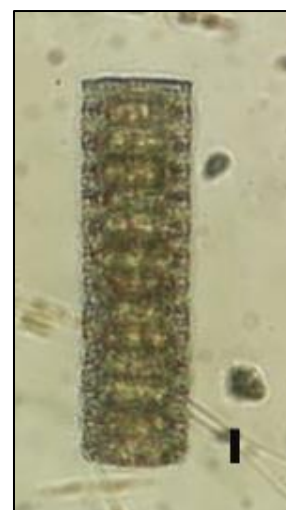
Género *Paralia*

Especie *Paralia sulcata*

Células cilíndricas cortas heterovalvares, unidas para formar cadenas rectas. Valvas circulares con superficie valvar levemente convexa a planas. Cara de la valva y mantos claramente diferenciados. Valvas hermanas dentro de cadenas unidas a través de crestas y surcos entrelazados bien desarrollados, y por espinas marginales

Fig Nº 33. *Paralia sulcata*. MO. Vista general. Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala 10 µm**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.



División Bacillariophyta
 Clase Coscinodiscophyceae
 Género *Sundstroemia*
 Especie *Sundstroemia setigera*

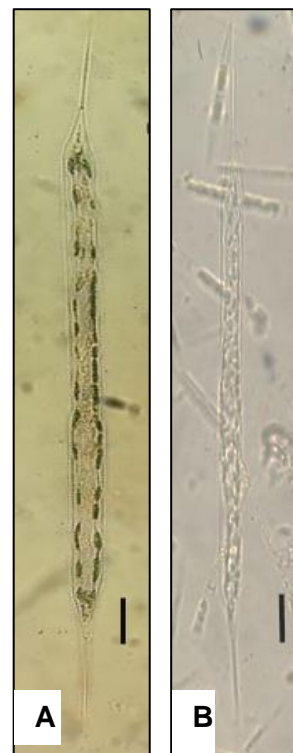
Las células son solitarias o en pares, cilíndricas, de sección circular. La valva es agudamente cónica, alargada, con un proceso muy largo en forma de aguja, casi recto, más ancho en la base y estrechándose gradualmente hacia la punta. Ha sido reportada como productora de floraciones nocivas no tóxicas en la costa oeste de Estados Unidos que pueden provocar mortandad de peces e invertebrados debido al agotamiento del oxígeno o afectar la dinámica de la cadena trófica.

Fig N° 34. *Rhizosolenia setigera*. MO. A y B Vista general. A Estación de muestreo Bengoa. B Estación de muestreo Riacho.

Escala A y B 25 µm

Fuente: Sunesen y col. .2007. Marine diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). IV. *Rhizosolenia* s. str., *Neocalyptrella*, *Pseudosolenia*, *Proboscia*.

Fuente: Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44(1): 67-88.



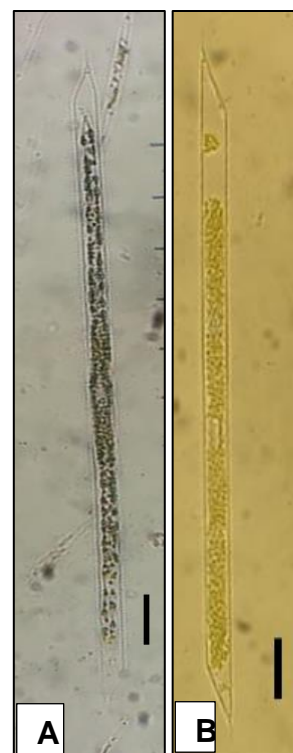
***Rhizosolenia imbricata* Brightwell 1858**

División Bacillariophyta
 Clase Coscinodiscophyceae
 Género *Rhizosolenia*
 Especie *Rhizosolenia imbricata*

Las células son solitarias o en cadenas cortas, cilíndrico, circular a ligeramente elíptico en sección transversal. La valva es oblicuamente cónica, con la parte ventral mucho más larga que la parte dorsal. El área contigua es grande, de forma variable, desde circular en especímenes de sección circular a ovalada en especímenes con sección transversal elíptica, limitada por marginal bien desarrollado crestas.

Fig N°35. *Rhizosolenia imbricata*. MO. A y B Vista general. A y B Estación de muestreo Bengoa. **Escala A y B 25 µm**

Fuente: Sunesen I., Sar E.2007. Marine diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). IV. *Rhizosolenia* s. str., *Neocalyptrella*, *Pseudosolenia*, *Proboscia*.



***Thalassiosira gravida* Cleve 1896**

División Bacillariophyta
Clase Mediophyceae
Género *Thalassiosira*
Especie *Thalassiosira gravida*

Células rectangulares a discoideas en vista conectival, reunidas en colonias conectadas por un mucilago secretado por el clúster de fultoportulae central.

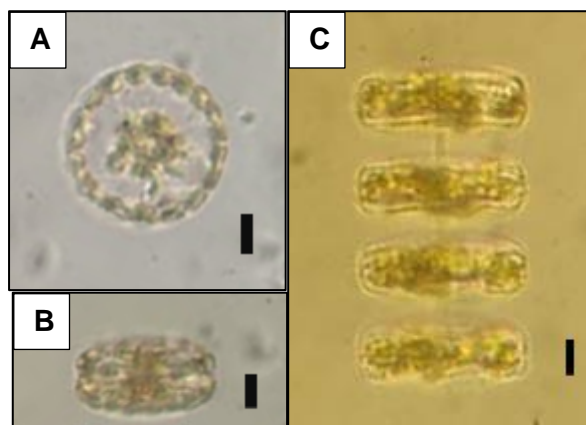


Fig N° 36. *Thalassiosira gravida*. MO. A Vista valvar de una célula. B vista conectival de una célula. C Vista general de una cadena conectada por mucilago. A y B Estación de muestreo Rada Tilly. C Estación de muestreo Bengoa. **Escala A, B y C 10 µm.**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

***Thalassionema nitzschioides* Grunow ex Mereschkowsky, 1902**

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Thalassionema*
Especie *Thalassionema nitzschioides*

Células unidas por los extremos en colonias en forma de abanico o en zigzag por moco almohadillas. Valva de contorno elíptico a lineal, con similares, polos suavemente redondeados. Cara de valva plana, con esternón ancho delimitado por una fila marginal de areola colocada entre ella y el manto de la válvula.

Ejemplares con una gran variación de longitud, sin cambios significativos en el rango.

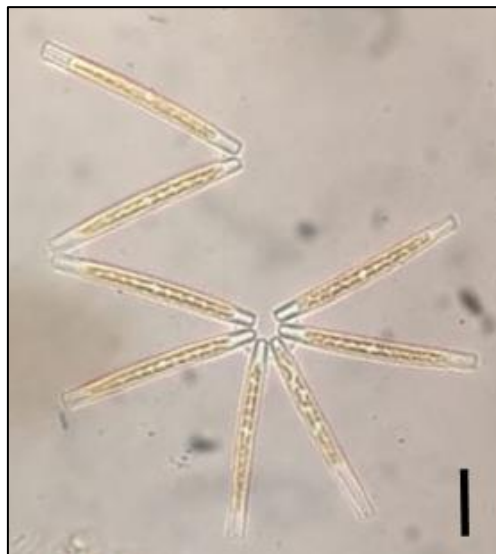


Fig N°37. *Thalassionema nitzschioides*. MO. A Vista general de células reunidas en colonia. Estación de muestreo Bengoa. **Escala 20 µm.**

Fuente: Sar E., y col. 2007. Marine Diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). II Thalassionemataceae and Rhapsoneidaceae. Revista Chilena de Historia Natural 80(1):63-79

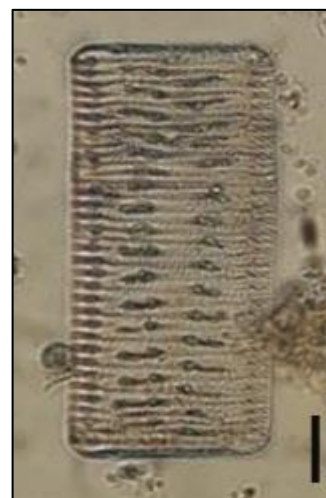
***Rabdonema adriaticum* Kützing 1844**

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Rabdonema*
Especie *Rabdonema adriaticum*

Frústulo rectangular con ápices redondeados en vista cingular unidos en colonias en zigzag o rectas por pads de mucilago secretados a través de los campos de poros de los ápices de las valvas. Valvas arrafidales estriadas con esternón muy angosto. Numerosas bandas singulares.

Fig N°38. *Rabdonema adriaticum*. MO. Vista conectival. Estación de muestreo Folias. **Escala 25 µm.**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.



***Delphineis surirella* (Ehrenberg) G.W.Andrews 1981**

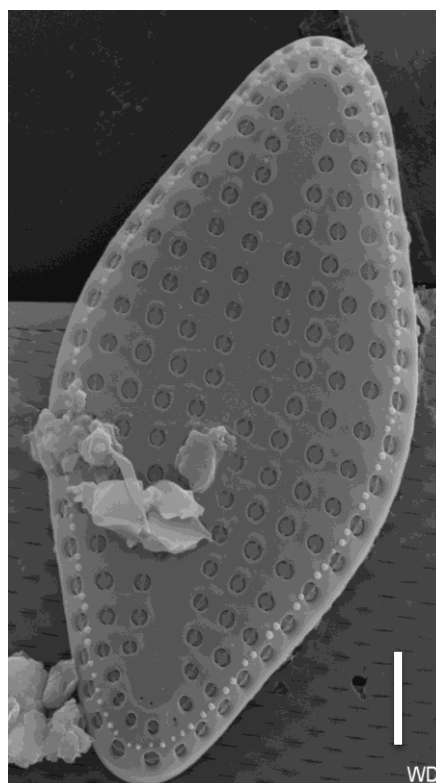
División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Delphineis*
Especie *Delphineis surirella*

Células solitarias. Valvas rómbico-elípticas a elíptico-lanceolada, con producido sin rodeos ápices redondeados. Valva con suave plano a superficie externa ligeramente ranurada, manto de valva oblicua y muy poco profunda. Una sola fila de areolas aproximadamente del mismo tamaño y uniformemente espaciado se coloca entre la superficie de la valva y el manto. Estrías uniseriadas, casi rectas o ligeramente curvada, perpendicular en el centro a irradian en la mayor parte de la superficie, no consistentemente alineado a través del esternón.

Procesos labiados que toman el lugar de una areola en cada vértice, ya sea en el mismo o lado opuesto del esternón, sésil internamente y apertura externa por un labio.

Fig N° 39. *Rhaphoneis amphiceros*. MEB. Vista general. Estación de muestreo Larralde. **Escala 2 µm.**

Fuente: Sar E., y col. 2007. Marine Diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). II Thalassionemataceae and Rhaphoneidaceae. Revista Chilena de Historia Natural



Pleurosigma decorum W.Smith 1853

División Bacillariophyta

Clase Bacillariophyceae

Género *Pleurosigma*

Especie *Pleurosigma decorum*

Valvas abovedadas hacia los polos, elevadas en el área del rafe. Ramas del rafe externamente rodeadas por un área estrecha lisa. Fisuras centrales del rafe onduladas en el mismo sentido, superpuestas en paralelo por alguna distancia, ligeramente divergentes y expandidas en los extremos. Fisuras terminales del rafe en forma de gancho, desviadas en sentido opuesto hacia el lado cóncavo de la valva, aproximadamente paralelas al margen apical de la valva y terminadas cerca del margen valvar.

Rafe estrecho, internamente engrosado. Área central en forma de silla de montar lisa, con un engrosamiento variable. Nódulo central elíptico limitado por dos barras aproximadamente simétricas en forma de paréntesis. Terminaciones centrales del rafe coaxiales, expandidas en forma de poro, terminaciones polares finalizadas en helictoglosa pequeñas, torcidas hacia el margen cóncavo de la valva, bordeadas por un refuerzo silíceo.

Areolas loculadas dispuestas en hileras decusadas, con forámenes externos en forma de ranura y poros internos elípticos, ocluidos por un himen más o menos hundido. Areolas ubicadas alrededor del área central con poros ocluidos circulares.



Fig N°40. MEB. *Pleurosigma decorum*. A Vista general externa. B Detalle de terminación del rafe externa. C Detalle de la zona central externa. Estación de muestreo Larralde. **Escala A: 20 μ m. B: 5 μ m. C: 3 μ m**

Fuente: Sar E., y col. 2013. Diatomeas de ambientes marinos costeros de Argentina. Especies del género *Pleurosigma* (Pleurosigmataceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 48 (1): 17-51.

***Licmophora flabellata* (Greville) C.Agardh 1831**

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Licmophora*
Especie *Licmophora flabellata*

Células cuneiformes en vista cingular, con bordes redondeados. Las valvas tienen forma de clava. El extremo basal es muy estrecho, ensanchándose gradualmente hasta el extremo superior. Longitud 88-119 μm .

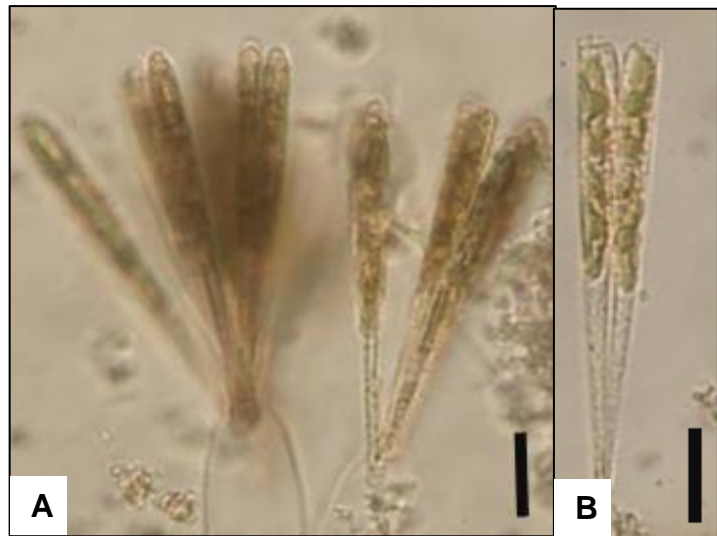


Fig N°41. *Licmophora flabellata*. MO. A Vista general de una colonia. B Vista general de dos ejemplares unidos. Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala 25 μm**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

***Licmophora abbreviata* C.Agardh 1831**

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Licmophora*
Especie *Licmophora abbreviata*

Células cuneiformes en vista cingular, con extremos redondeados. Con forma de bate de beisbol en vista valvar. A menudo crecen fijas a un sustrato formando colonias.

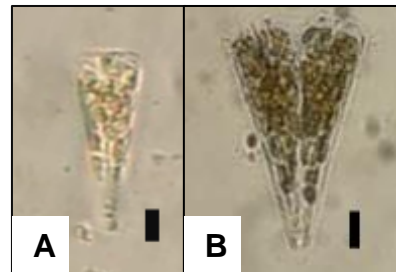


Fig N°42. *Licmophora abbreviata*. MO. A Vista general de un ejemplar. B Dos ejemplares unidos. A y B Estación de muestreo Belvedere.

Escala A y B 10 μm .

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

Pseudo-nitzschia aff. *calliantha* Moestrup et Hasle 2003

ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA

División Bacillariophyta

Clase Bacillariophyceae

Género *Pseudo-nitzschia*

Especie *Pseudo-nitzschia* aff. *calliantha*



Frústulos en vista valvar son lineales ligeramente asimétricos, en vista cingular lineales. Las células se reúnen formando colonias por superposición de sus extremos valvares en aproximadamente 1/8 del largo total del eje apical. Parámetros morfométricos: Las valvas presentan un eje apical de 40 a 100 μm y un eje transapical de 1,5-1,8 μm . Esta especie no ha sido reportada en la Provincia de Chubut como productora de AD (ácido domoico), aunque ha estado presente en muestras mixtas de fitoplancton en donde se ha medido esta toxina.

Fig N°43. *Pseudo-nitzschia* aff. *calliantha*. MO. A Vista general de un ejemplar. Estación de muestreo Larralde. **Escala 2,5 μm .**

Fuente: Sastre V., y col.2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut.

Pseudo-nitzschia australis Frenguelli 1939

ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA

División Bacillariophyta

Clase Bacillariophyceae

Género *Pseudo-nitzschia*

Especie *Pseudo-nitzschia australis*

Las células forman colonias por superposición de sus extremos valvares en aproximadamente 1/3- 1/4 del largo total de la célula. En vista valvar los frústulos son linear-lanceolados. Los extremos valvares son agudos en vista cingular y subostrados a redondeados en vista valvar. El rafe no muestra interespacio central. Parámetros morfométricos: El eje apical es de 80 a 140 μm y el eje transapical de 7 a 8,5 μm .

Pseudo-nitzschia australis fue reportada por primera vez en 1991 como productora de ácido domoico.

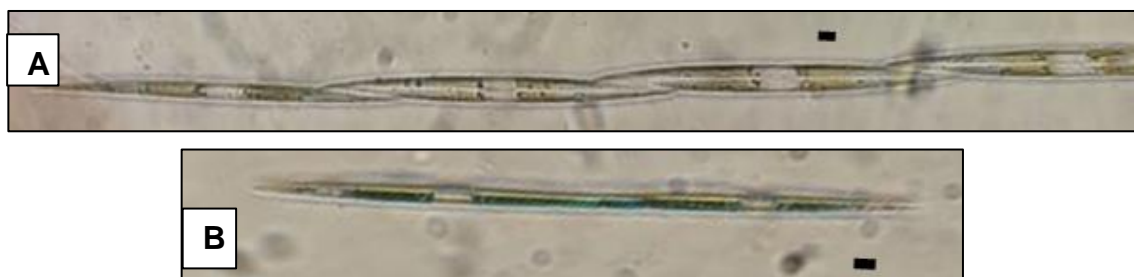


Fig N°44. *Pseudo-nitzschia australis*. MO. A Vista general de una cadena en vista valvar. B vista general de una cadena en vista conectival. Estación de muestreo A y B Pto Rawson. **Escala A y B 5 μm .**

Fuente: Sastre y col.2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut.

Sunesen y col. 2009. Diatomeas potencialmente nocivas del Golfo San Matías (Argentina). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(1): 67-88.

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Pseudo-nitzschia*
Especie *Pseudo-nitzschia pungens*

Frústulos fuertemente silificados. Los ejemplares más largos en vista valvar son lineales los más cortos fusiformes, con los extremos puntiformes. En vista cingular ambas formas son fusiformes. Las células se superponen por sus extremos valvares en aproximadamente 1/3 de su largo total.

Parámetros morfométricos: El eje apical es de 86 a 145 μm y el eje transapical de 3 a 4,5 μm .

Pseudo-nitzschia pungens es productora de ácido domoico.



Fig N°45. *Pseudo-nitzschia pungens*. MO. A Vista general de una cadena en vista valvar. B vista general de una cadena en vista conectival. Estación de muestreo A y B Pto Rawson. **Escala A y B 5 μm .**

Fuente: Sastre V., y col.2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut

***Eucampia zodiacus* Ehrenberg 1839**

División Bacillariophyta
Clase Mediophyceae
Género *Eucampia*
Especie *Eucampia zodiacus*

Frústulos unidos en cadenas planas, curvas en espiral. Superficie valvar cóncava con elevaciones anchas y cortas, terminadas en ocelos.

Fig N°46. *Eucampia zodiacus*. MO. Vista general de dos ejemplares unidos. Estación de muestreo Bengoa.

Escala 10 μm .

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.



***Asterionellopsis glacialis* (Castracane) Ronda 1990**

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Asterionellopsis*
Especie *Asterionellopsis glacialis*

Colonias espiraladas.
heteropolares en vistas conectival y valvar,
entre sí por la base de la superficie valvar
parte ensanchada.

Extremo ensanchado triangular en vista
conectival y espatulado en vista valvar.
apical de poros atravesado por costillas, en
extremos de las valvas. Un solo proceso labiado cercano al polo apical.

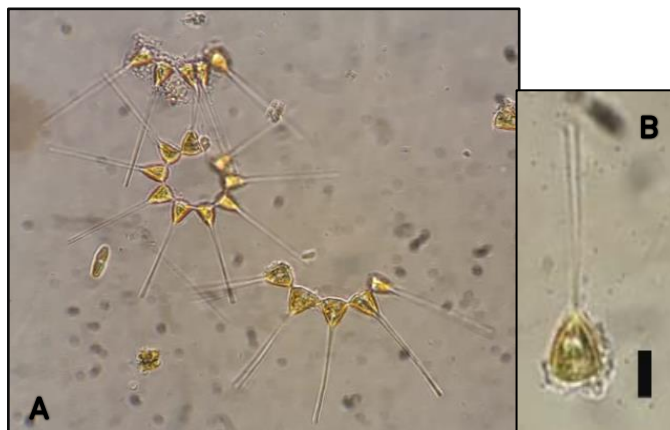


Fig N°47. *Asterionellopsis glacialis*. MO. A Colonias de *Asterionellopsis*. B Vista general de un ejemplar.
Estación de muestreo Patón. **Escala B 10 µm.**

Fuente: Sunesen I., Sar E. 2007. Diatomeas marinas de aguas costeras de la provincia de Buenos Aires (Argentina). III Géneros potencialmente nocivos *Asterionellopsis*, *Cerataulina*, *Ceratoneis* y *Leptocylindrus*. Revista Chilena de Historia Natural 80: 493-507.

***Grammatophora marina* (Lyngbye) Kützing 1844**

División Bacillariophyta
Clase Bacillariophyceae
Género *Grammatophora*
Especie *Grammatophora marina*

Frústulo rectangular en vista cingular, con
septos ligeramente ondulados sobre las bandas singulares.
Valvas lineales con ápices redondeados. Células generalmente
en colonias formando cadenas en zigzag unidas por un pads de
mucilago secretado por los poros apicales.

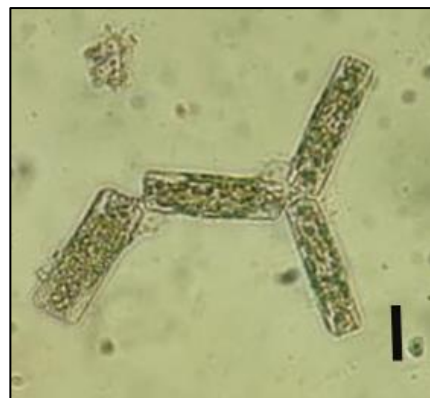


Fig N° 48. MO. *Grammatophora marina*. Vista general de una
cadena. Estación de muestreo Bengoa. **Escala 20 µm.**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

***Stephanopyxis nipponica* Gran & Yendo 1914**

División Bacillariophyta
Clase Coscinodiscophyceae
Género *Stephanopyxis*
Especie *Stephanopyxis nipponica*

Células con numerosos cloroplastos discoides y conectadas por largos y procesos delgados que unen hasta 4 células en cadenas rectas. Las frustulas son cilíndricas en vista de faja, las valvas están abovedadas con un manto valvar alto, 21–42 µm de diámetro.



Fig N° 49. *Stephanopyxis nipponica*. MO. Vista general de una cadena de dos individuos. Estación de muestreo Larralde. **Escala 10 µm.**

Fuente: Ferrario M., y col. 2012. *Stephanopyxis* species (Bacillariophyceae) from shelf and slope waters of the Argentinean Sea: Ultrastructure and distribution. Nova Hedwigia Vol. 96 issue 1–2, 249–263.

***Stephanopyxis turris* (Greville) Ralfs 1861**

División Bacillariophyta
Clase Coscinodiscophyceae
Género *Stephanopyxis*
Especie *Stephanopyxis turris*

Células con numerosos cloroplastos discoides y conectadas por enlaces de cortos procesos para formar cadenas rectas, generalmente de cuatro células de largo. Los frustulos son cilíndricos en vista de cintura.

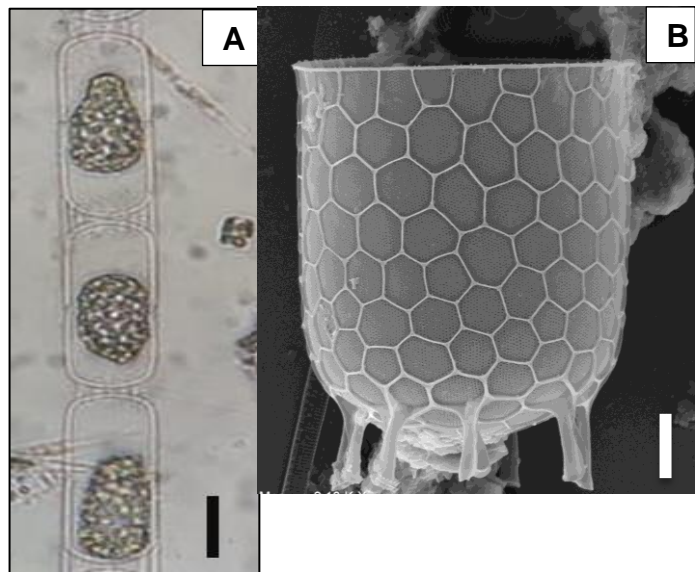


Fig N°50. *Stephanopyxis turris*. MO. A Vista general de una cadena. Estación de muestreo Patón. B MEB. Vista de una valva.

Escala A= 25 µm. y B = 5 µm.

Estacion de muestreo Larralde.

Fuente: Ferrario M., y col. 2012. *Stephanopyxis* species (Bacillariophyceae) from shelf and slope waters of the Argentinean Sea: Ultrastructure and distribution. Nova Hedwigia Vol. 96 issue 1–2, 249–263.

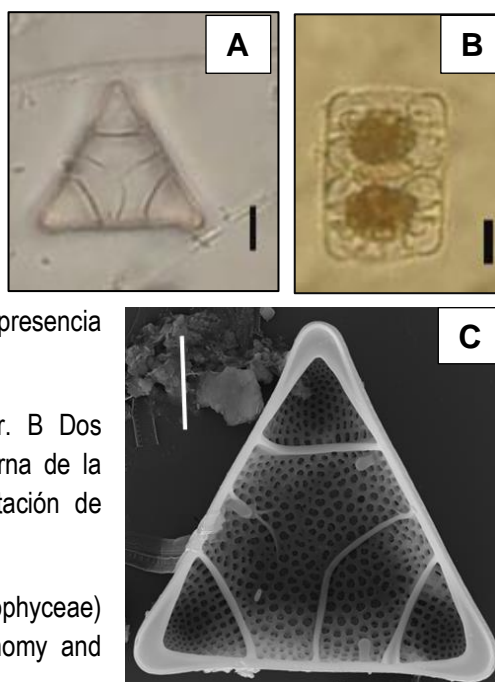
***Biddulphia alternans* (Bailey) Van Heurck 1885**

División Bacillariophyta
Clase Mediophyceae
Género *Biddulphia*
Especie *Biddulphia alternans*

Presencia de elevaciones pseudoceladas en las tres esquinas de la valva, delimitadas internamente por costas bien desarrolladas, y por la presencia de una curva tripartita lineal en el centro de la valva.

Fig N°51. *Biddulphia alternans*. MO. A Vista valvar. B Dos ejemplares unidos en vista conectival. C. Vista interna de la valva. A y B estación de muestreo Bengoa. C estación de muestreo Larralde. **Escala A, B y C 10 µm.**

Fuente: Cefarelli A., y col. 2015. Diatoms (Bacillariophyceae) associated with free-drifting Antarctic icebergs: taxonomy and distribution. Polar Biol.



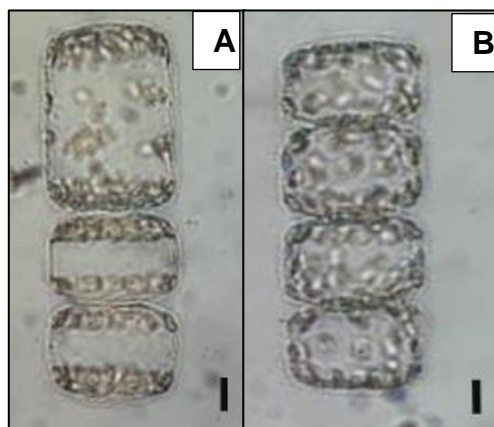
***Detonula pumila* (Castracane) Gran 1900**

División Bacillariophyta
Clase Mediophyceae
Género *Detonula*
Especie *Detonula pumila*

Células cilíndricas con numerosos cloroplastos generalmente en cadena unidas por un cordón de mucilago. Valvas circulares más o menos convexas, con una depresión central.

Fig N°52. *Detonula pumila*. MO. A y B. Vista conectival de ejemplares unidos en cadena. A Estación de muestreo Bengoa. B Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala A y B = 10 µm.**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.



***Lithodesmium undulatum* Ehrenberg 1839**

División Bacillariophyta

Clase Mediophyceae

Género *Lithodesmium*

Especie *Lithodesmium undulatum*

Valvas triangulares con márgenes ondulantes y extremos elevados. Las células se unen para formar colonias en una cadena lineal. Las valvas suelen ser triangulares. La parte central tiene un proceso tubular (columna vertebral) y cada ángulo tiene una excrescencia corta. Su tamaño varía entre 20 y 95 μm .

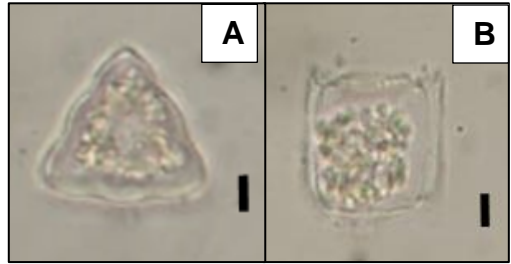
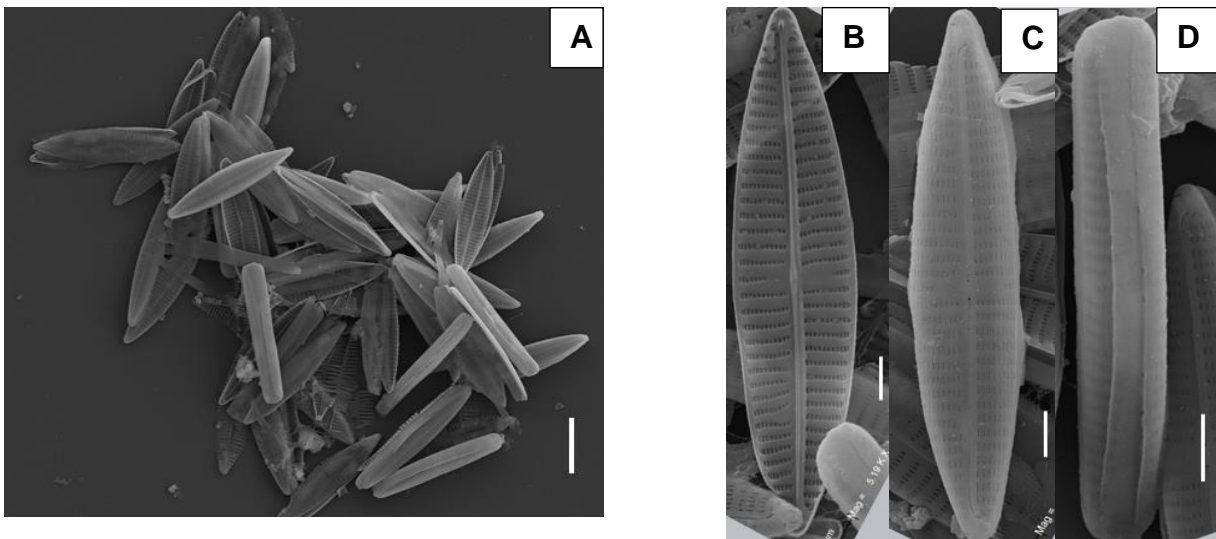


Fig N°53. *Lithodesmium undulatum*. MO. A Vista apical. B Vista lateral. A y B Estación de muestreo Pto. Rawson. **Escala A y B 10 μm .**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

***Navicula* sp.**



Las valvas de *Navicula* sp son elípticas. Los extremos de las valvas son grandes, agudos, redondeados. El esternón central está engrosado y ese engrosamiento es algo asimétrico.

El rafe es recto con los extremos proximales ligeramente desviados hacia un lado.

Estrías paralelas al rafe. Terminación de las estrías es muy próxima al rafe.

La zona del centro se encuentra descubierta de estrías, ya que estas acortan su longitud.

Largo de eje apical= 23,83 μm

Largo de eje transapical= 5,53 μm

N° de estrías en 10 μm = 14

Figura N° 54. *Navicula* sp. MEB. A. Vista general de aglomeración de células en el cultivo. B Vista valvar interna. C Vista valvar externa. D Vista pervalvar. **Escala A= 10 μm . Escala B y C= 2 μm . Escala D= 3 μm .** Cultivo proveniente de la estación de muestreo Riacho.

Dinophyta

***Prorocentrum micans* Ehrenberg 1834**

Clase Dinophyceae

Género *Prorocentrum*

Especie *Prorocentrum micans*

Especie de tamaño mediano, de forma oval muy asimétrica y algo angulosa con polo anterior de mayor dimensión. Posee un diente bien desarrollado con un eje espiniforme que sostiene una membrana



Especie cosmopolita, si bien es capaz de generar intensas floraciones es considerada inofensiva.

Fig N°56. *Prorocentrum micans*. MO. A y B Vista lateral. A Estación de muestreo Larralde. B Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala A y B 10 µm.**

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

***Scrippsiella acuminata* (Ehrenberg) Kretschmann, Elbrächter, Zinssmeister, S. Soehner, Kirsch, Kusber & Gottschling 2015**

Clase Dinophyceae

Género *Scrippsiella*

Especie *Scrippsiella acuminata*

Epiteca generalmente con flancos francamente convexos y principio de cuello. El ápice muestra cuatro puntitas que corresponden al corte óptico de dos anillos o rebordes concéntricos. Dimensiones: L 30-39; Trd. 18-23.



Figura N°57. *Scrippsiella acuminata*. MO. Vista de general de un individuo. Estación de muestreo Pardelas. **Escala= 10 µm**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1. Pag 159.

Kretschmann J., y col. 2015. Taxonomic clarification of the dinophyte *Peridinium acuminatum* Ehrenb., *Scrippsiella acuminata*, comb. nov. (Thoracosphaeraceae, Peridinales). Phytotaxa 220 (3): 239–256.

***Alexandrium catenella* (Whedon y Kofoid) Balech 1985**

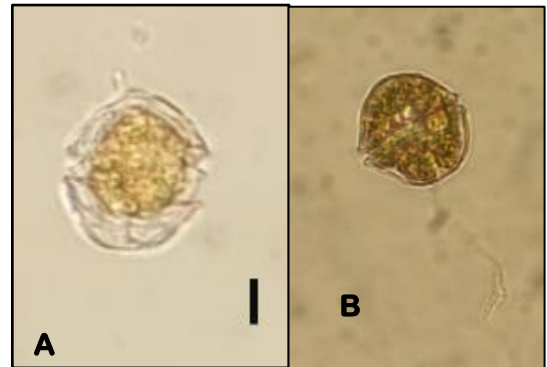
ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA

Clase Dinophyceae

Género *Alexandrium*

Especie *Alexandrium catenella*

Tamaño mediano o pequeño depende del estado fisiológico de la célula, isodiamétrica o con muy pequeñas diferencias entre el largo y el ancho y en este caso apenas más largo que ancho. Forma irregularmente pentagonal, epitoca hemisférica, hombros perceptibles no fuertemente marcados.



Especie asociada a intensas floraciones, productora de toxinas paralizantes (TPM).

Fig N°58. *Alexandrium catenella*. MO. A Vista ventral. B Vista ventral con uno de sus flagelos. A Estación de muestreo Belvedere. B Estación de muestreo Bengoa. **Escala A= 10 µm, Aumento B 40x.**

Fuente: Sastre V., 2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut.

***Tripos eugrammus* (Ehrenberg 1860) F.Gómez 2013**

Clase Dinophyceae

Género *Tripos*

Especie *Tripos eugrammus*

Esta especie posee un cuerpo alargado y angosto. La epitoca se continúa con el cuerno apical en forma gradual. Paredes robustas con un cingulum bien marcado. Cuernos antapicales de longitud variable pero siempre más o menos desarrollados, sobre todo el izquierdo que puede ser relativamente muy largo.



Fig N°59. *Tripos eugrammus*. MO. A Vista dorsal. B Vista lateral del mismo ejemplar. Estación de muestreo Bengoa. **Escala A y B= 25 µm**
Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

Fuente: Gómez F., 2020. Speciation and infrageneric classification in the planktonic dinoflagellate *Tripos* (Gonyaulacales, Dinophyceae) ScienceOpen Preprints.

***Triplos furca* (Ehrenberg 1833) F.Gómez 2013**

Clase Dinophyceae

Género *Triplos*

Especie *Triplos furca*

Cuerpo pentagonal más largo que ancho, con frecuencia de lados algo redondeados o irregulares. Cuernos relativamente gruesos a veces algo dentados. Borde antapical poco oblicuo, con frecuencia engrosado y en ocasiones con protuberancias que se desarrollan formando espinas. .

Fig N°60. *Triplos muelleri*. MO. A Vista dorsal. B Vista lateral. Estación de muestreo A y B Belvedere. **Escala A y B= 25µm**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1.

Fuente: Gómez F., 2020. Speciation and infrageneric classification in the planktonic dinoflagellate *Triplos* (Gonyaulacales, Dinophyceae) ScienceOpen Preprints.



***Triplos muelleri* Bory 1826**

Clase Dinophyceae

Género *Triplos*

Especie *Triplos muelleri*

Teca fuerte de escultura marcada pero en general sin membranas ni espinas bien desarrolladas. Cuerpo con frecuencia algo torcido o deforme, irregular. Cuernos bastantes desarrollado, con mayor desarrollo el apical. Cuernos antapicales generalmente de menor dimensión que el apical, poco diferentes entre sí y ampliamente separados del cuerpo.

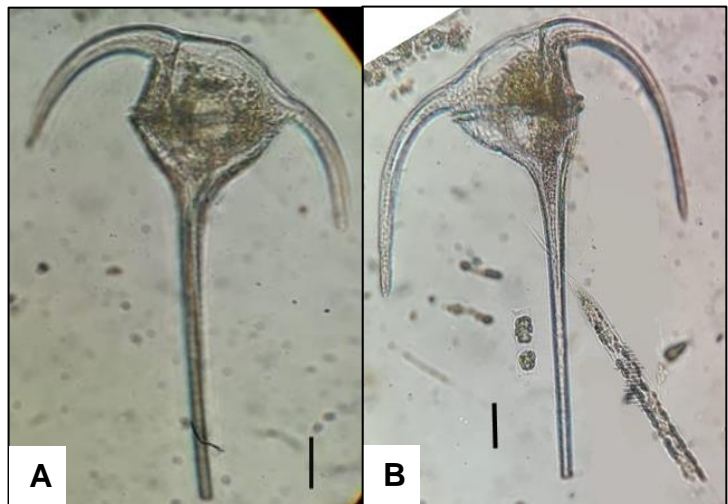


Fig N°61. ***Triplos muelleri***. MO. A y B Vista general. A Estación de muestreo Bengoa. B Estación de muestreo Larralde. **Escala A y B= 25 µm**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1.

Fuente: Gómez F., 2020. Speciation and infrageneric classification in the planktonic dinoflagellate *Triplos* (Gonyaulacales, Dinophyceae) ScienceOpen Preprints.

***Preperidinium meunieri* (Pavillard) Elbrächter 1993**

Clase Dinophyceae

Género *Preperidinium*

Especie *Preperidinium meunieri*

Especie de tamaño variable, más ancho que alto, lenticular, a veces un poco aplastada en los polos. En vista frontal se ve sobresalir la aleta sulcal izquierda, en vista lateral se nota que la aleta se dilata bruscamente a mitad de altura.

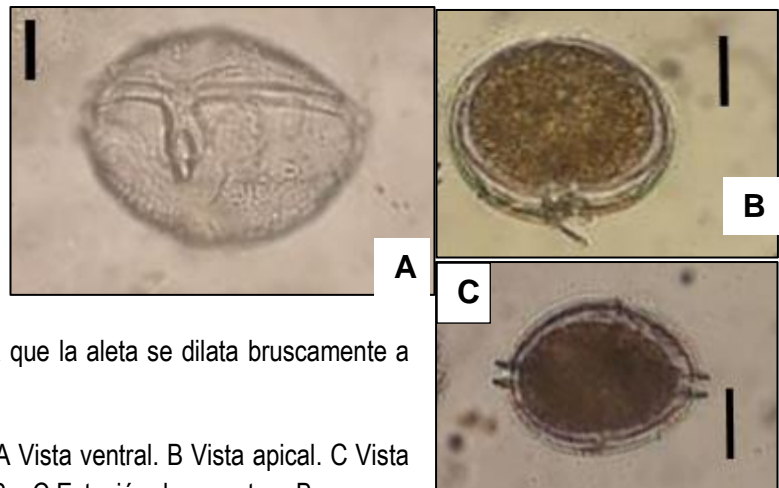


Fig N°62. *Preperidinium meunieri*. MO. A Vista ventral. B Vista apical. C Vista dorsal A Estación de muestreo Riacho. B y C Estación de muestreo Bengoa.

Escala A, B y C 20 μm .

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

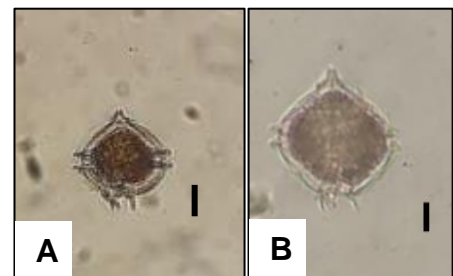
***Protoperidinium pallidum* (Ostenfeld) Balech 1973**

Clase Dinophyceae

Género *Protoperidinium*

Especie *Protoperidinium pallidum*

Tamaño mediano. Forma pentagonal con cuello de emergencia gradual. Muesca antapical baja pero conspicua, algo oblicua, bordeada por dos espinas fuertes, bastante largas y divergentes con membranas bien desarrolladas pero no muy anchas.



Fuerte aplastamiento dorsoventral y cingulum inclinado respecto al eje. Las paredes de las tecas parecen terminar algo delante de las espinas pues su contorno pierde nitidez ahí.

Fig N°63. *Protoperidinium pallidum*. MO. A Vista ventral. B Vista dorsal. A Estación de muestreo Belvedere. B Estación de muestreo Puerto de Rawson. **Escala A y B= 10 μm .**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1. Pag 117.

***Protoperidinium divergens* (Ehrenberg) Balech 1974**

División Dinophyta

Clase Dinophyceae

Especie *Protoperidinium divergens*

Mediana grande a bastante grande. Poco aplastamiento dorso ventral, eje poco inclinado respecto al plano cingular. En vista frontal pentagonal más alta que ancha, modificada por la profunda muesca antapical delimitada por un par de cuernos bien desarrollados terminados en sendas espinas. Cuello cónico de emergencia gradual. Los flancos de la epiteca pueden ser regulares y suavemente cóncavos pero con más frecuencia son casi rectos en la base o ligeramente convexos y poco más arriba de media altura se forma una concavidad que señala el nacimiento del cuello.



Fig N°64. *Protoperidinium divergens*. MO. A Vista dorsal. B Vista lateral. C Vista apical. A, B y C Estación de muestreo Riacho. **Escala A y B= 20 μ m.**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1. Pag 109.

***Protoperidinium aff punctulatum* (Paulsen) Balech 1974**

División Dinophyta

Clase Dinophyceae

Especie *Protoperidinium aff punctulatum*

De mediano tamaño, pentagonal con muesca antapical baja. Sin cuerno antapicales, apical rudimentario. Epiteca cónica algo irregular. Flancos de la hipoteca convexos atrás. Un par de espinas diminutas. Aplastamiento dorsoventral pequeño. Escultura fuerte formada por un reticulado que puede ser bien marcado bastante débil pero con nódulos gruesos que en la hipoteca se hacen muy salientes y casi siempre le dan un aspecto hispido bastante notable y típico.

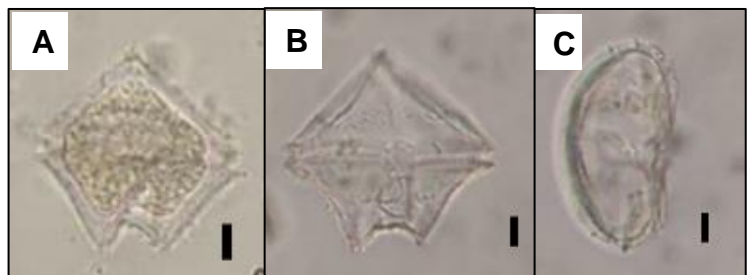
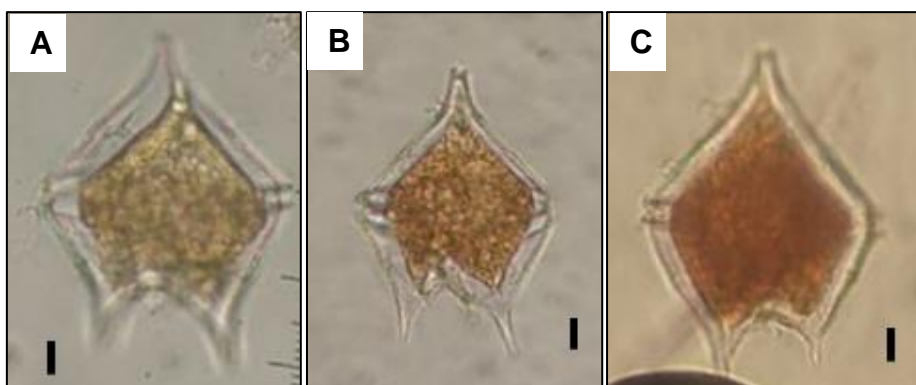


Fig N°65. *Protoperidinium divergens*. MO. A Vista dorsal. B Vista ventral. C Vista lateral. A, B y C Estación de muestreo Riacho. **Escala A y B= 10 μ m.**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1. Pag 90.



Formas muy variadas, con cingulum, por lo menos en parte, en posición más o menos ecuatorial. Generalmente, hay un cuello o cuerno apical, a veces reducidísimo, excepcionalmente ausente, en ocasiones largo; puede haber un par de cuernos antapicales. Con o sin espinas antapicales. Nunca con grandes brazos. Cingulum, excavado o no, pero siempre bien delimitado anterior y posteriormente, formado por tres placas propias y una transicional.

Fig N°66. *Protoperidinium* sp. MO. A, B y C Vista dorsal. Estación de muestreo Belvedere.

Escala A, B y C= 10 µm.

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1. Pag 77.

***Dinophysis tripos* Gourret 1883**

ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA

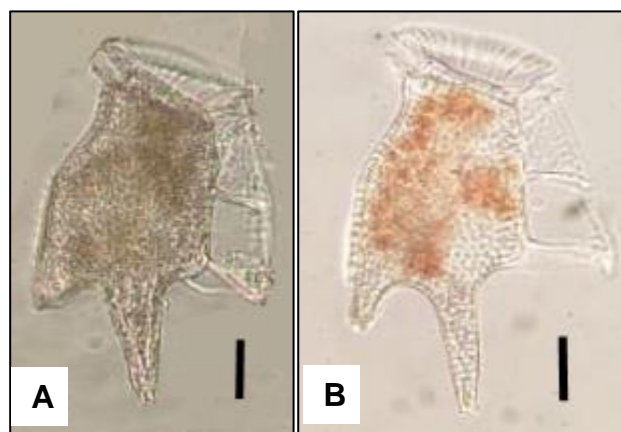
División Dinophyta

Clase Dinophyceae

Especie *Dinophysis tripos*

Célula

grande con dos procesos posteriores con forma de V uno se extiende casi a lo largo de la línea media del cuerpo y esta hacia la mitad entre los márgenes ventral y dorsal, el otro es corto y dorsal. La aleta Sulcal izquierda es más amplia posteriormente t tiene un margen recto. El segundo apéndice caudal dorsal mucho más corto que el ventral.



Lee y col. 1989 determinaron la producción de toxina diarreica (TDM) de esta especie pero sería de escasa importancia como tóxico. Pero recientemente se relacionó a pectenotoxinas en aguas costeras Argentinas.

Fig N°67. *Dinophysis tripos*. MO. A y B Vista lateral. A Estación de muestreo Riacho. B Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala A, B y C= 20 µm.**

Fuente: Sastre V., y col.2019. Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la provincia de Chubut.

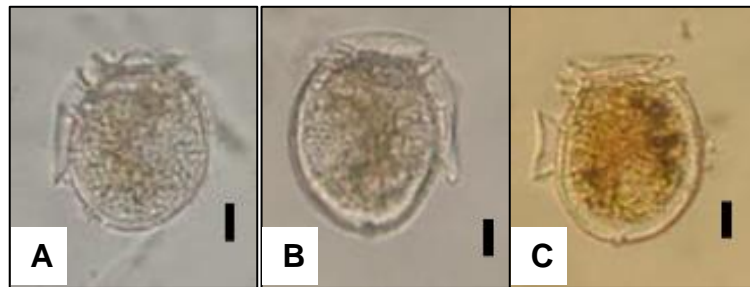
División Dinophyta

Clase Dinophyceae

Especie *Dinophysis acuminata*

Formas relativamente anchas, L/H aproximadamente 1.07-1.18; extremo posterior bastante regularmente redondeado, con o sin

protuberancias, generalmente sin ellas. En vista lateral elíptica más o menos alargada antero-posteriormente. Epiteca pequeña, levemente convexa a aplastada. Cingulum muy cóncavo dorsalmente. Aleta cingular anterior bastante desarrollada, sin costillas pero a veces irregularmente esculpida. Sulcal izquierda bastante más corta que la hipoteca, de borde libre irregular, con frecuencia fuertemente doblado hacia la derecha. Con frecuencia hay algunas protuberancias irregulares en la región antapical (una o dos).



Principal especie de brotes de TDM, productora de ácido akadaico (OA).

Fig N°68. *Dinophysis acuminata*. MO. A, B y C Vista lateral. A Estación de muestreo Bengoa. B Estación de muestreo Pardelas. C Estación de muestreo Rada Tilly. **Escala A, B y C= 10 µm.**

Fuente: Balech E., 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Instituto español de Oceanografía. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Número 1. Pag 90.

Ochrophyta

Octactis speculum (Ehrenberg) F.H.Chang, J.M.Grieve & J.E.Sutherland 2017

ESPECIE POTENCIALMENTE NOCIVA

División Ochrophyta

Clase Dictyochophyceae

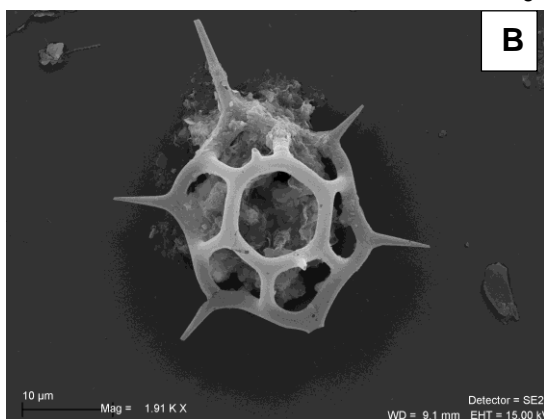
Género *Octactis*

Especia *Octactis speculum*

Presenta un anillo basal hexagonal con espinas radiales en cada uno de sus extremos. Al anillo basal se le une un anillo apical también hexagonal por medio de seis varillas basales, formando un número igual de ventanas basales. Presenta una ventana apical constituida por el anillo apical. El anillo basal varía en cuanto al número de espinas radiales que fluctúan entre 6 a más de 9.



Se ha señalado en ocasiones a los silicoflagelados como causantes de



mortandad de peces. La fase esqueletal puede causar lesiones de tejidos delicados tales como epitelio de las agallas.

Fig N°69. *Dictyocha speculum*. A. MO. Vista general. B. MEB. Vista externa. Estación de muestreo A Pardelas, y B Larralde.

Escala A y B = 10 µm.

Fuente: Mardones J., y col. 2016. Manual de microalgas del sur de Chile. Plancton Andino.

Fuente: Ferrario M., y col. 2019. Bacillariophyceae.

Microalgas marinas tóxicas en aguas costeras de la Provincia de Chubut Editor Sastre, Viviana. Cap. 4. pag. 73-95