

## Fitoflagelados potencialmente tóxicos y nocivos de costas del Pacífico mexicano

Ernesto Bravo-Sierra

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Laboratorio de Diversidad y Ecología de Fitoplancton Marino, UNAM, México, D.F. Apdo. Postal 70-30504510 México; ebravo@mar.icmyl.unam.mx

Recibido 31-X-2002. Corregido 15-VII-2003. Aceptado 11-XII-2003.

**Abstract:** The phytoflagellates are a heterogeneous group of autotrophic, heterotrophic and mixotrophic flagellates of trophic importance in several ecosystems. As in the rest of Latin America, the phytoflagellates that occur in the Mexican Pacific coasts are virtually unknown except for a few records. Their study require complicated collection and analysis methods, a probable cause for the scarce knowledge of this group in tropical and subtropical areas. Material recently collected from various localities along the Mexican Pacific coasts was used to study phytoflagellates, including toxic and potentially toxic species. Plankton samples were treated by gravity and pump filtration, using different methods for fixation and analysis. The phyla Euglenophyta, Heterokontophyta and Haptophyta were found. They occur as plankton in oceanic and shallow coastal waters.

**Key words:** Phytoflagellates, toxic, harmful species, Mexican Pacific.

**Palabras clave:** Fitoflagelados, tóxico, especies nocivas, Pacífico mexicano.

El fitoplancton marino es una comunidad formada por numerosos grupos de microalgas que generalmente se encuentran a la deriva en el medio pelágico y que tienen capacidad de fotosíntesis, formando por lo tanto la base de la cadena alimenticia en este medio.

Como parte integral del fitoplancton marino se encuentran los fitoflagelados, grupo heterogéneo de organismos unicelulares micro-planctónicos (<200  $\mu\text{m}$ ), nano-planctónicos (<20  $\mu\text{m}$ ) e incluso ultra-planctónicos o pico-planctónicos (<2  $\mu\text{m}$ ) que destacan en la producción primaria, en la biomasa total y en la concentración total de clorofilas en el océano tanto en zona costera como en zona oceánica (Malone 1971a, 1971b, Throndsen 1979, Hallegraeff 1981, 1983, Booth *et al.* 1982, Hallegraeff y Jeffrey 1984, Hernández-Becerril 1993). Pertenecen a varias clases algales y en la actualidad debido a estudios recientes de taxonomía, filogenia, ciclos de vida, etc, se agrupan según

el autor entre 15 y 20 grupos. (Throndsen 1969, 1976, Moestrup 1979, Cox 1980, Hoek *et al.* 1995). También se incluye por lo menos al 50 % de las especies de la clase Dinophyceae (Dinoflagelados), aquellas que presentan una pared celular, generalmente blanda y deformable al contacto con varios fijadores, sin embargo éstos últimos no serán abordados en este trabajo. La gran mayoría de ellos presentan clorofila *a* y cada grupo presenta diferentes combinaciones de pigmentos accesorios incluyendo clorofila *b*, clorofila *c*<sub>1</sub>, clorofila *c*<sub>2</sub>, biliproteínas y varios carotenoides. Esta gran variación refleja una composición pigmentaria muy característica para cada grupo en particular y orígenes distintos de los cloroplastos (Hoek *et al.* 1995).

Dada la delicadeza y fragilidad de estos organismos, las metodologías adecuadas para su investigación a nivel específico se deben aplicar a muestras vivas, siguiendo un particular

protocolo de recolecta y análisis, usando fijadores suaves (que preservan estructuras básicas) y/o estableciendo cultivos. Dentro de su estudio, es importante realizar observaciones *in vivo* de morfología externa y ultra-estructura con el fin de obtener información característica de sus flagelos, escamas, cloroplastos, núcleo, vacuolas contráctiles, morfología externa, etc., para lograr identificarlos (Guillard 1995, Billard y Chrétiennot-Dinet 1995). Generalmente están desprovistos de pared celular conspicua y para observar dichas características y lograr conservar su forma original se requiere de ciertos procedimientos como son: concentración, deshidratación, punto crítico de secado, etc.

Con base en lo anterior, este estudio contribuirá de manera significativa al conocimiento de especies tóxicas y potencialmente tóxicas o nocivas para el Pacífico mexicano, usando metodologías y técnicas específicas para el estudio de los fitoflagelados marinos, incluyendo algunas especies que tienen posibilidad de estar presentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El material que se utilizó para este trabajo ha sido obtenido de recolectas en varias regiones de las costas del Pacífico mexicano (Ensenada; Pta. Eugenia; Bahía Magdalena; La Paz; Mazatlán; Lázaro Cárdenas; Ixtapa; Zihuatanejo; Acapulco; Pto. Angel; Huatulco; Salina Cruz y Pto. Madero) durante diferentes épocas del año (1998-2001), en sub-superficie y a diferentes profundidades en la columna de agua, con recolectas de botellas (Van Dorn, de 3-5 litros), tanto en cruceros oceanográficos programados, como en pequeñas embarcaciones y en la línea de costa.

### Material preservable

Para el estudio de organismos con esqueletos y estructuras preservables, el material se obtuvo con botella (3-5 l) a diferentes profundidades dentro de la capa fótica, en estaciones

tanto costeras como oceánicas. Se filtró totalmente con ayuda de la bomba de vacío, haciendo pasar el agua con un equipo de filtración a través de un filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ , para concentrar y retener los organismos en el filtro. Los fijadores utilizados incluyen solución amortiguadora (con pH neutro), agua destilada, solución lugol-acetato y glutaraldehído, como lo mencionan Thronsdén (1997), Jensen (1998) y Pickett-Heaps (1998). Ya con los filtros fijados y enjuagados, sin excedentes de sales, se dejan secar y están listos para realizar las observaciones con aproximadamente 1  $\text{cm}^2$  del filtro, registrando e identificando las especies contenidas en el mismo. Se elaboraron preparaciones permanentes transparentando los filtros con aceite de inmersión para microscopio de luz. Para el microscopio electrónico (MEB o MET) el procedimiento sólo difiere en la parte inicial referente al montaje y recubrimiento de los filtros, dado que, el  $\text{cm}^2$  de filtro se montó en soportes metálicos especiales sobre cubreobjetos para luego metalizarlos con oro-paladio y por último revisarlos en el MEB o MET.

### Material vivo

Se recolectó con botella (3-5 l) y se filtró por gravedad con filtros de 1.2  $\mu\text{m}$  de poro, evitando así el deterioro de los organismos. Antes de terminar el filtrado de toda la muestra (20-30 ml), se resuspendió el material con una pipeta Pasteur para homogeneizar y luego se realizaron inóculos de todo el material en recipientes (tubos de ensayo y/o matraces) que contenían medio de cultivo Erd-Schreiber y Guillard's (F/2 Sigma Chemical Co. Ref. G-0154 y G-1775) previamente elaborado con agua de la misma localidad, filtrada a través de un filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  (Harrison *et al.* 1980, Keller *et al.* 1987, Moestrup com. pers.). Además, se tomaron algunas submuestras (10 ml), las cuales fueron preservadas con solución lugol-acetato y glutaraldehído (Jensen 1998) para posteriores observaciones. Ya con los cultivos en desarrollo se realizaron aislamientos de organismos con micropipetas (ver Thronsdén 1979, Hamilton 1979 y Lee 1993 para

mayor detalle) resembrando repetidamente para tratar de obtener cultivos unialgales.

Así mismo, con algunas sub-muestras provenientes de los cultivos se probaron varios métodos, tales como punto crítico de secado (Billard y Chrétiennot-Dinet 1995), cortes de secciones celulares (Cáceres 1995, Thronsdén y Zingone 1997), tinción o contrastado con uranilo (Billard y Chrétiennot-Dinet 1995) y sombreado ("shadow-casting") (Moestrup y Thomsen 1980), entre otros, dada la fragilidad y delicadeza de los organismos a estudiar.

Es preciso mencionar que el desarrollo de éstas metodologías es producto de una búsqueda bibliográfica intensa, así como experimentos de prueba-error hasta poder observar en buenas condiciones los organismos objeto de este estudio.

Para conocer la morfología externa y su ultra-estructura, las observaciones se realizaron en microscopio de luz (marca Zeiss, axio-lab), con iluminación de contraste de fases (campo claro, campo oscuro). Así mismo, se llevaron a cabo observaciones en el microscopio electrónico de barrido y microscopio electrónico de transmisión.

## RESULTADOS

Hasta el momento se tienen reconocidas para el Pacífico mexicano, como especies tóxicas o potencialmente tóxicas y nocivas, solamente ocho táxones de fitoflagelados. Dentro de la clase Euglenophyceae un taxon (*Eutreptiella gymnastica* Thronsdén), dentro de la clase Raphidophyceae aunque solo se registra un taxon (*Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada ex Sourin) se mencionan otras seis especies citadas en otros trabajos o con posibilidad de estar presentes en costas de México (*Chattonella antiqua* (Hada) Ono, *C. globosa* Hara y Chihara, *C. marina* (Subrahmanyam) Hara y Chihara, *C. subsalsa* Biecheler, *C. verruculosa* Hara y Chihara, *Fibrocapsa japonica* Toriumi y Tacano), dentro de la Clase Dictyochophyceae (comúnmente conocidos como silicoflagelados) cuatro táxones (*Dictyocha fibula* Ehrenberg, *D. speculum* Ehrenberg, *D. octonaria* Ehrenberg y *D. californica* Ehrenberg) y finalmente dentro de

la clase Haptophyceae, un taxon reconocido (*Paeocystis pouchetii* (Hariott) Lagerheim) y otros dos con posibilidad de estar presentes en costas mexicanas (*Chrysochromulina polylepsis* Manton y Parke, *C. leadbeateri* Estep, Davis, Hargraves y Sieburt).

### Phylum Euglenophyta

#### *Características generales de las Euglenophyceae*

Las euglenas marinas son microalgas unicelulares de vida libre, aunque algunas son palmeloides o adheridas a un sustrato, presentan flagelos (uno o dos insertados en la faringe, de posición anterior), son fusiformes y tienen una talla mediana-grande que oscila entre 15-500  $\mu\text{m}$  de largo y más de 10  $\mu\text{m}$  de ancho. Las células presentan una película o cubierta, formada por bandas proteínicas distinguibles en microscopía de luz, aunado a lo anterior, es una característica particular de éstos organismos el presentar cambios de forma en la célula, mecanismo también llamado metabolia. Tienen como pigmentos mayoritarios la clorofila *a*, *b*,  $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno, diadinoxantina, zeaxantina, neoxantina y anteraxantina. Sus cloroplastos varían en forma, tamaño y en cuanto a la estructura del pirenoide. Por lo general se distribuyen en ambientes costeros y por ello han sido asociadas a contaminación. También se atribuye su presencia a altas concentraciones de contaminantes de origen orgánico (Jeffrey y Vesik 1997). Hasta el momento dentro de este grupo se tiene registrada solamente a *E. gymnastica*, como una especie potencialmente nociva, sin embargo, hasta ahora no hay ningún registro de la misma en algún evento. Esta especie junto con otras, aunque no se le conoce toxina alguna, produce abundantes proliferaciones que perjudican la industria pesquera y el turismo, entre otros (Villarino *et al.* 1995, Olli *et al.* 1996, Lee *et al.* 2000).

#### *Identificación de euglenofíceas*

Sin lugar a dudas su peculiar y característica cubierta así como su mecanismo de

movimiento son la principal diferencia en relación con otros grupos de algas pues su cubierta presenta una cutícula gruesa o delgada formada por bandas separadas por estrías dispuestas en espiral, éstas últimas sirven como carácter taxonómico a nivel de especie dado su sentido (dextrógiro o a la derecha y levógiro o a la izquierda).

También son usados otros caracteres tales como presencia o ausencia, número, posición y forma de los cloroplastos, flagelos, estigma, canal, reservorio, paramilon (o sustancia de reserva), vacuolas y núcleo, así como su modo trófico y su hábitat.

Es importante aquí notar que muchas de las especies son incoloras y por tanto su modo trófico es la heterotrofia mientras que las formas verdes son autótrofas y exhiben una gran gama de colores como se pueden ver en las ilustraciones de Butcher (1961).

#### *Eutreptiella gymnastica* Thronsen

Célula fusiforme ligeramente robusta y con pocos cloroplastos distribuidos en la periferia celular. Los cloroplastos están distribuidos por toda la célula, son grandes y alargados. El tamaño oscila entre 15 y 30  $\mu\text{m}$  de largo. Presenta movimientos rápidos de contracción y distensión lo cual se convierte en una característica conspicua de la especie. Su cuerpo se contrae hacia la parte caudal tomando forma de gota engrosada dorso-ventralmente para luego y con movimientos relativamente rápidos (menos de 1-2 seg.) extenderse hacia el ápice de la célula, de forma puntiaguda, tomando la forma alargada que finalmente se contornea, según los diferentes materiales que pueda encontrar en su camino y de esta manera va avanzando una pequeña y corta distancia en diferentes direcciones para finalmente iniciar de nuevo contrayéndose y así sucesivamente sigue avanzando ayudada de su flagelo caudal, el más corto (8-15  $\mu\text{m}$ ). El otro flagelo es más largo (25-35  $\mu\text{m}$ ) y se enrolla sobre la célula.

### **Phylum Heterokontophyta**

Dentro de las heterocontófitas son varias los protistas que han sido registrados como agentes potencialmente tóxicos y nocivos, destacando las Bacillariophyceae (Diatomeas), las Raphidophyceae, las Pelagophyceae, no incluidas aquí, y las Dytiochophyceae (comúnmente conocidos como silicoflagelados) (Moestrup 2000).

#### *Características generales de las rafdofíceas*

Todos los organismos perteneciente a esta clase de microalgas unicelulares de vida libre son flagelados neríticos productores de ictiotoxinas, de forma cocoide a ovoide, frecuentemente aplanada dorso-ventralmente y cuya talla oscila entre 30 y 100  $\mu\text{m}$  y también conocidos como cloromonadas (chloromonadas) debido a la presencia de varias especies en aguadulce. Las células presentan numerosos cloroplastos de color amarillo, dorado y café (incluso más de 20). Son desnudas o sin ninguna estructura o cubierta rígida por lo que son formas muy frágiles y los métodos tradicionales de recolecta y preservación las destruyen y deforman sistemáticamente, así que requieren de su estudio *in vivo*. Tienen dos flagelos hetero-dinámicos insertados en la porción sub-apical, uno de ellos (generalmente el más largo) se dirige hacia adelante en su movimiento natatorio, mientras que el otro es arrastrado. Es conocida la presencia de numerosos tricocistos y mucosistos (*Chatonella* y *Fibrocapsa*), así como ejetosomas (*Heterosigma*) que son expulsados súbitamente, generalmente al ser fijadas o por algún otro tipo de agresión a las células en cultivo. Presentan clorofila *a*, *c*<sub>1</sub> y *c*<sub>2</sub>, fucoxantina,  $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno y violaxantina como pigmentos característicos. Precisamente la composición pigmentaria ha sido usada para el esclarecimiento a nivel específico pero aún así los resultados que se tienen son complementarios, por lo que actualmente se están usando otros marcadores

para distinguir entre las especies pertenecientes a los cuatro géneros (*Chattonella*, *Heterosigma*, *Fibrocapsa* y *Olisthodiscus*) (Marshall *et al.* 2002). Se conocen alrededor de ocho especies en el ambiente marino, todas ellas productoras de proliferaciones algales tóxicas que afectan la vida marina, principalmente a los peces (Hallegraeff y Hara 1995, Jeffrey y Vesik 1997).

#### *Identificación de rafidofíceas*

La presencia de dos flagelos y los numerosos cloroplastos hacen de las rafidofíceas un grupo de flagelados que se pueden distinguir fácilmente. Existe sólo un flagelado marino con el cual podría confundirse y corresponde a la fase desnuda de los silicoflagelados, los cuales poseen también numerosos cloroplastos amarillos, pero la diferencia importante es que estos presentan un sólo flagelo, que se observa claramente en microscopio óptico, y el cual se desprende del surco apical y se extiende en sentido anterior. La identificación de estos organismos es de gran importancia pues como lo menciona Moestrup (2000) las rafidofíceas son por lo general agentes potenciales causantes de muertes de peces mientras los silicoflagelados en su fase desnuda se los considera inofensivos hasta el momento.

Es necesario resaltar que las rafidofíceas se deforman y explotan cuando son fijadas. Aunque el lugol-acetato en ciertos casos es de gran ayuda, provoca que las células se contraigan y deformen. Las células después de ser fijadas pierden sus flagelos por lo que una plena identificación debe ser realizada con material vivo. Se conoce que de las rafidofíceas *H. akashiwo* es la especie cuyo crecimiento es el más rápido (1.5 divisiones por día) en condiciones óptimas y además tiene la capacidad de realizar migraciones a capas profundas ricas en nutrientes en ausencia de luz y retornar a la superficie cuando se reanuda la fotosíntesis (Moestrup 2000).

#### *Rafidofíceas citadas y con posibilidad de estar presentes en costas de México*

##### Género *Chattonella* Biecheler

Aunque ha sido registrada principalmente en aguas templado-cálidas (Mediterráneo,

India, etc.) también se tienen algunos registros para aguas frías (Mar del Norte en costas de Dinamarca y Noruega), podemos pensar que su distribución es más amplia, por lo que pudiese estar presente en aguas del Pacífico mexicano, teniendo hasta el momento sólo un registro (Band-Schmidt *et al.* sometido) y hasta el momento ningún caso de mortandad de peces como en otras partes del mundo (Moestrup 2000, Tomas *et al.* 2002).

Su distinción en relación con otras rafidofíceas es, además de su talla (entre 12 y 120 µm), la inserción de los flagelos en la parte apical de la célula como menciona Moestrup (2000). Aunado a lo anterior y para mayor información sobre las especies pertenecientes a este género es recomendable revisar Hallegraeff y Hara (1995).

Se conocen cinco especies (*C. antiqua*, *C. globosa*, *C. marina*, *C. subsalsa*, *C. verruculosa*), dentro de éste género, que pueden estar relacionadas con eventos de mortandad de peces (IOC-UNESCO 2002). Sólo una de recién hallazgo *C. ovata* (Hiroishi *et al.* 2000), no está incorporada dentro de las especies reportadas como tóxicas, por lo que todas ellas tienen la posibilidad de estar en aguas del Pacífico mexicano. Más aún, que Odebrech y Abreu (1995) registraron la presencia de rafidofíceas para aguas del sur de Brazil.

##### Género *Fibrocapsa* Toriumi y Takano

La única especie dentro de este género *F. japonica*, ha sido reportada como agente causante de grandes mortandades de peces (Tomas *et al.* 2001). Se menciona en la literatura que esta especie es de amplia distribución, por lo que es claro que esté presente en costas de México, aunque hasta el momento no se tiene ningún registro en la literatura. A diferencia de las otras rafidofíceas, esta especie presenta un grupo de tricocistos muy grandes y en forma de uña hacia la parte posterior de la célula Moestrup (2000).

##### Género *Heterosigma* Hada

Se reconocen no más de dos especies pertenecientes a este género. Una de ellas *H. akashiwo*,

es una especie que ha sido reportada por producir mortandades de peces en diferentes partes del mundo (Chang *et al.* 1990, Smayda 1998, IOC-UNESCO 2002). Es bien conocida la formación de células bentónicas de resistencia como parte de su ciclo de vida dentro de esta especie. Durante los años 1971 a 1985, esta especie fue frecuentemente confundida con *Olisthodiscus luteus*. Su principal diferencia con otras rafdofíceas es el lugar y posición de inserción de los flagelos, lateralmente emergiendo de un surco en la célula. Las células cultivadas por mucho tiempo se notan totalmente deformadas y con movimientos lentos y caóticos. Fue registrada su presencia en 1999, por primera vez en varias costas de México (Hernández-Becerril y Bravo-Sierra 1999).

#### Género *Olisthodiscus* Carter

No existe ningún reporte de especies correspondientes a éste género ni en el cono suramericano ni en costas de México. Tampoco se ha documentado ningún incidente que relacione a alguna especie de éste género con un evento tóxico, pero se le considera como un agente hemolítico, sin confirmación científica hasta el momento, por lo que es necesario no sólo investigar su presencia en aguas de México sino también reevaluar su potencial tóxico. Su distribución esta restringida a Europa y Japón, pero es muy probable que esté presente en otras partes del mundo incluyendo el continente americano. Su particularidad como especie bentónica la diferencia de las demás especies de rafdofíceas, que son planctónicas. Quizá el hecho de ocupar un nicho diferente como organismo adecuado al ambiente bentónico, le haya permitido adquirir una forma aplanada, cuyos movimientos son rotatorios alrededor del eje longitudinal de la célula (Moestrup 2000).

#### *Características generales de las Dictyochophyceae (silicoflagelados)*

Los silicoflagelados son microalgas desnudas, unicelulares, marinas, planctónicas y con un flagelo, cuyas tallas oscilan entre los 20

y 100  $\mu\text{m}$ . Los pigmentos característicos incluyen clorofila *a*, *c*<sub>1</sub>, *c*<sub>2</sub>, 19'-butanoyloxifucoxantina y diadinoxantina o fucoxantina. Presentan numerosos cloroplastos y observados en vivo su citoplasma simula ser como una esponja con gran cantidad de cloroplastos. Están constituidos por tentáculos estructuralmente armados de haces de microtúbulos internos o exoesqueleto silíceo compuesto de elementos tubulares, es importante mencionar aquí, que la taxonomía de este grupo se basa en la morfología del exoesqueleto y éste a su vez presenta gran variabilidad y se encuentran en considerables cantidades en el sedimento. Las formas desnudas han sido asociadas a eventos de toxicidad (Moestrup y Thomsen 1990). Son excelentes indicadores de masas de agua (Pérez-Cruz y Molina-Cruz 1988) y generalmente se les ha asociado con mortandades de peces, debido a que sus esqueletos compuestos de espinas pueden causar daño en tejidos, como es el caso del epitelio de las agallas de algunos peces, produciendo la asfixia de éstos ya que se interfiere de manera directa con el intercambio de gases, comprobándose que no producen ningún tipo de toxina (Henricksen *et al.* 1993, Jeffrey y Vesik 1997). Moestrup (2000) menciona que pueden ocurrir falsas identificaciones cuando se encuentran en el plancton. Este autor afirma la presencia de sólo tres especies que se han documentado con células vivas, lo cual ha sido refutado por Hernández-Becerril y Bravo-Sierra (2001), quienes reportan para costas del Pacífico de México la presencia de células vivas de *Dictyocha californica*. Hasta el momento no se han documentado ni registrado proliferaciones de estos organismos en aguas del Pacífico mexicano pero no estamos exentos de ello. Las especies que han sido vinculadas con mortandades de peces son: *D. fibula*, *D. speculum* y *D. octonaria*.

#### *Características generales de las Haptophyta*

Son microalgas marinas, unicelulares, planctónicas, de talla pequeña (entre 5 y 30  $\mu\text{m}$ )

y con dos flagelos en alguna etapa de su ciclo de vida. Su forma varía de esférica, oval, elipsoida a fusiforme o aplastada. Presentan clorofila *a*,  $c_1$  ó  $c_3$ ,  $c_2$ ,  $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno y 19'-exanoyloxi-fucoxantina, 19'-butanoyloxi-fucoxantina o fucoxantina. De manera general se pueden reconocer formas no mineralizadas con escamas orgánicas y formas con escamas calcáreas constituidas de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), éstas últimas se forman en el aparato de Golgi y aún no se conoce a ciencia cierta cual es la función de estas estructuras comúnmente conocidas como cocolitos. Como característica morfológica de importante relevancia dentro del grupo, es la presencia de un "haptonema", similar en forma pero diferente en función y composición a un flagelo, pues algunas especies tienen la posibilidad de atrapar alimento con el haptonema, mientras que a otras les sirve para adherirse al sustrato (Jeffrey y Vesik 1997). Es notable en algunas especies el desarrollo de floraciones masivas (p. ej. *Emiliana huxleyi*) y en otras la producción de ic-tiotoxinas. El grupo más representativo y diverso es el de los cocolitofóridos (Winter y Siesser 1994). Para aguas del Pacífico mexicano Hernández-Becerril *et al.* (2001), realizaron un trabajo florístico-taxonómico sobre 24 especies de cocolitofóridos, incorporando 15 nuevos registros para la zona norte del Pacífico mexicano. El registro fósil es muy importante y de gran relevancia en estudios paleoceanográficos.

#### *Identificación de Haptófitas*

La identificación a nivel de especie implica el uso de diferentes estrategias y métodos. Moestrup (2000) explica de manera detallada como deben ser fijadas y montadas las muestras en porta-objetos y así examinar las preparaciones permanentes con más veracidad ya sea usando el objetivo de inmersión, contraste de fases o iluminación Nomarsky (Moestrup 2000). La identificación a nivel de especie es difícil en microscopio de luz por ello se recomienda la realización de preparaciones para microscopía electrónica usando técnicas como

el sombreado o la tinción con uranilo (Billard y Chrétiennot-Dinet 1995, Cáceres 1995). Las escamas de muchas especies son fácilmente observables en microscopio óptico, pero definitivamente la resolución que tiene el microscopio electrónico es mucho mayor y permite definir con lujo de detalle los diferentes tipos que presentan.

#### *Haptófitas citadas y con posibilidad de estar presentes en costas de México*

#### **Clase Primnesiophyceae**

De forma general el phylum Haptophyta comprende dos clases según Edvarsen *et al.* (2000). Sólo los organismos pertenecientes a una de ellas, Primnesiophyceae, son conocidos como causantes de episodios nocivos (IOC-UNESCO 2002).

#### Género *Chrysochromulina*

Según los estudios sobre análisis de toxicidad en más de 50 especies pertenecientes a este género, se demuestra que sólo *C. polylepis* y *C. leadbeateri* son especies tóxicas (Moestrup 2000 y IOC-UNESCO 2002) aunque Moestrup y Thomsen (1995) incluyen además de las anteriores a tres especies de este género (*C. brevifilum* Parke y Manton, *C. kappa* Parke y Manton y *C. strobilus* Parke y Manton). Dado que su distribución está restringida a aguas frías y a las condiciones que requieren los cultivos de varias de estas especies, quizá sea difícil encontrarlas en costas de México. Sin embargo, el autor ha observado células en cultivo que indican lo contrario, sin hasta ahora haber determinado la especie en cuestión, ni su grado de toxicidad (Bravo-Sierra in prep.). Por lo anterior es necesario e imperativo el llevar a cabo un mayor estudio sobre estos organismos en costas de América.

#### Género *Phaeocystis*

Dentro de éste género se ha citado con regularidad a *P. pouchetii* como una especie,

que aunque, no se le ha detectado toxina alguna, causa un efecto nocivo relacionado con la disminución en las pesquerías y el turismo en zonas costeras. Esto se debe a que sus densas concentraciones pueden llegar a causar atascos en las redes de pesca o depositar en las playas una espuma que aleja a los turistas, trayendo consigo problemas en la industria pesquera y turística que perjudican social y económicamente a los pobladores de las zonas afectadas.

Por lo general son células sin flagelo que se agrupan en la periferia de una colonia amorfa. Durante el proceso de secado, para ser observadas en microscopio electrónico, liberan unas estructuras estrelladas y en cada esquina se proyecta una espina muy larga, simulando quizá la función de un tricocisto. Es necesario la observación en microscopio electrónico de estas estructuras, de las cuales se reconoce la naturaleza quitinosa solamente para *P. globosa* Scherffel (Chretiennot-Dinet *et al.* 1997). Stabel *et al.* (1999) comprobaron el efecto anestésico en larvas de bacalao (*Gadus morhua* Linneo) y solamente la muerte en casos de excesivo consumo de *P. pouchetii*.

Dentro de este género se reconocen en total cuatro especies incluyendo a *P. pouchetii*, *P. antarctica* Karsten, *P. globosa*, y *P. scrobiculata* Moestrup. De esta última, solo se conoce su estado flagelado unicelular, mientras que las otras tres son coloniales y además presentan estructuras como tricocistos de forma pentagonal. Hasta el momento no se han identificado componentes tóxicos en ninguna de estas especies, por lo que son necesarios estudios mas detallados de las mismas.

Se mencionan en la literatura dos especies de cocolitofóridos que no producen ninguna toxina pero producen grandes proliferaciones, similares a los de *P. pouchetii* y ocasionan grandes pérdidas a nivel socio-económico, ellas son: *E. huxleyi* (Lohmann) Hay y Mohler var. *huxleyi* y *Gephyrocapsa oceanica* Kamptner. Ambas han sido registradas en todos los océanos del mundo y también para la parte norte del Pacífico mexicano (Hernández-Beceiril *et al.* 2001).

## DISCUSIÓN

Son varios los trabajos sobre especies potencialmente tóxicas, tóxicas y nocivas (Hallegraeff *et al.* 1995, Hansen *et al.* 2001, Sar *et al.* 2002, IOC 2002, Faust y Gullledge 2002, entre otros) puesto que se ha comprobado su toxicidad y en algunos casos no sólo el efecto e impacto sobre el ambiente sino también en diversas ámbitos como son la industria, la economía, el turismo, etc., lo que da una idea del grado de avance que se tiene en esta área. En su contraparte, aún son muchas las áreas geográficas así como los organismos que hacen falta por estudiar no sólo a nivel mundial sino también en nuestro país, implicando así un gran reto para la comunidad científica puesto que debemos imprimir mayores esfuerzos para incrementar nuestro conocimiento.

El estudio de especies potencialmente tóxicas es relativamente reciente en México, principalmente debido a la falta de personal capacitado y especializado que lo haga, además las técnicas y métodos usados para su estudio son también de reciente conocimiento en Latinoamérica (Alveal *et al.* 1995, Sar *et al.* 2002), pues en muchos de los casos se requiere de observaciones de material en vivo, incluyendo aquí toda la información referente a color, forma de la célula, movimiento, tipo de flagelos, tamaño y tracción de éstos, organelos internos y disposición de estos en la célula, etc. Posterior a ello, la realización de cultivos de la mejor calidad, axénicos, unialgales y monoclonales de los cuales se puede obtener buena información sobre fisiología, ultraestructura y presencia o no de compuestos tóxicos y otros aspectos como composición y estructura molecular, organelos internos.

Aunado a lo anterior tenemos una gran cantidad de especies que han sido transportadas en las aguas de lastre de los barcos. Estos llevan y traen gran cantidad de especies que en el peor de los casos, desarrollan formas resistentes comúnmente conocidas como esporas o quistes, las cuales permanecen en este estado hasta que se presentan las condiciones necesarias para disparar su desarrollo y permanencia



en aguas donde se constituyen en especies introducidas, con toda la problemática ambiental ya documentada en otros ambientes de desplazamiento de especies nativas, así como competencia por alimento, nicho, etc. (Hallegraeff y Bolch 1992, Hallegraeff 1993, Hallegraeff 1995). En este contexto son muchas las especies que aunque han sido registradas en diferentes latitudes, aún no se conoce su toxicidad, siendo que causan grandes pérdidas en las localidades de origen o viceversa.

La plena identificación de especies de fitoflagelados tóxicos o potencialmente tóxicos requiere pues una variedad de habilidades en la observación de parte del investigador, así como el uso de varias metodologías de recolecta, observación y preparación del material para tener certeza de su presencia y luego entonces determinar su grado de toxicidad si es el caso o en su defecto determinar si el problema fue debido a depleción de oxígeno o por daño en agallas de peces o muerte en invertebrados.

Otro aspecto importante a tener en cuenta, tiene que ver con la presencia o probable presencia de ciertos táxones reportados en este trabajo, cuyas poblaciones se han subestimado debido a los métodos de recolecta, por ejemplo, el uso de redes cuyo poro de malla es grande y permite que las especies pequeñas pasen a través de ésta y sólo las encontraremos en casos de exceso de material planctónico debido a que quedan retenidas allí, como consecuencia de que las redes ya están saturadas.

Es por ello que debemos realizar más estudios relativos a conocer estas especies en nuestras aguas, pues presentan una gran diversidad y variedad de hábitats para su desarrollo y proliferación. Así mismo se deben implementar una serie de medidas preventivas, pues la distribución irregular del plancton no asegura una representatividad real y además la capacidad de filtración y almacenamiento que tienen muchas de las especies que producen y liberan las toxinas las convierten en vectores potenciales a lo largo de la cadena alimenticia (Balech 2002).

Como consideraciones finales es pertinente resaltar la necesidad de vigilar la presencia de especies potencialmente tóxicas o nocivas y

por ende el establecimiento de un sistema de observación oceánico global de tal manera que sea un trabajo multidisciplinario, manteniendo a biólogos, químicos, oceanógrafos, etc., en el estudio de organismos que pueden causar grandes pérdidas en diferentes ámbitos.

## RESUMEN

Los fitoflagelados son un grupo heterogéneo de flagelados autotróficos, heterotróficos y mixotróficos, con importancia ecológica para los niveles tróficos en diferentes ecosistemas. Los fitoflagelados en costas del Pacífico mexicano (y en Latinoamérica en términos generales) son virtualmente desconocidos, sólo se tienen pocos registros. El estudio de los fitoflagelados requiere de métodos complicados de recolección y análisis. Esta es, probablemente, la causa de la escasez de conocimiento de este grupo en áreas tropicales y subtropicales. Material recientemente recolectado a lo largo del Pacífico mexicano sirvió para el estudio de fitoflagelados marinos, incluyendo algunos tóxicos y potencialmente tóxicos. Se usaron muestras de plancton filtradas por gravedad y con bomba de vacío utilizando diferentes métodos de fijación y análisis. Se registran aquellas especies presentes o con posibilidad de estarlo que son potencialmente nocivas para el ecosistema marino pertenecientes a los Phyla Euglenophyta, Heterokontophyta y Haptophyta. Estas especies están distribuidas en el plancton, en aguas oceánicas y costeras.

## REFERENCIAS

- Alveal, K., M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar (eds.). 1995. Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, Chile.
- Balech, E. 2002. Dinoflagelados tóxicos del Cono Suramericano, pp. 123-144. *In* E.A. Sar, M.E. Ferrario & B. Reguera. Floraciones Algaes Nocivas en el Cono Suramericano. Instituto Español de Oceanografía, Madrid, España.
- Billard, C. & M.J. Chretiennot-Dinet. 1995. Métodos para el estudio de los fitoflagelados, pp. 25-54. *In* K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar (eds.). 1995. Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, Chile.
- Booth, B.C., J. Lewin & R.E. Norris. 1982. Nanoplankton species predominant in the subarctic Pacific in May and June 1978. *Deep-Sea Res.* 29: 185-200.
- Butcher, R.W. 1961. An introductory account of the smaller algae of British coastal waters. Part VIII: Euglenophyceae

- = Eugleninae. Ministry of Agriculture, Fish. Food Fishery Invest. Series IV: 1-17.
- Cáceres, E. 1995. Métodos de preparación de algas para su observación con microscopía electrónica de transmisión convencional (METC), pp. 147-168. *In* K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar. (eds.). Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, Chile.
- Cox, E.R. 1980. Phytoflagellates. Elsevier. Nueva York, 473 p.
- Chang, F.H., C. Anderson & N.C. Boustead. 1990. First record of a *Heterosigma* (Raphidophyceae) bloom with associated mortality of cage-reared salmon in Big Glory Bay, New Zealand. *New Zealand J. Mar. Fresh. Res.* 24: 461-469.
- Chrétiennot-Dinet, M.J., M.M. Giraud-Guille, D. Vault, J.L. Putaux, Y. Saito & H. Chanzy. 1997. The chitinous nature of filaments ejected by *Phaeocystis* (Primmnesiophyceae). *J. Phycol.* 33: 666-672.
- Edwardsen, B., W. Eikrem, J.C. Green, R.A. Andersen, S. Moon-van der Staay & L.K. Medlin. 2000. Phylogenetic reconstructions of the Haptophyta inferred from 18S ribosomal DNA sequences and available morphological data. *Phycologia* 39: 19-35.
- Faust, M.A. & R.A. Gulledge. 2002. Identifying Harmful Marine Dinoflagellates. Smithsonian Contributions. Vol. 42. 144 p.
- Guillard, R.R.L. 1995. Culture methods, pp. 45-62. *In* G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson & A.D. Cembella (eds.). Manual of harmful microalgae. IOC Manuals and Guides No. 33, UNESCO. Paris.
- Hansen, G., J. Turquet & J.P. Quod. 2001. Potentially harmful microalgae of the western Indian Ocean: A guide based on a preliminary survey. IOC. Manuals and Guides. No. 41. UNESCO. 105 p.
- Hallegraeff, G.M. 1981. Seasonal study of phytoplankton pigments and species at a coastal station off Sidney: importance of diatoms and the nanoplankton. *Mar. Biol.* 61: 107-118.
- Hallegraeff, G.M. 1983. Scale-bearing and loricate nanoplankton from the East Australian Current. *Bot. Mar.* 26: 493-515.
- Hallegraeff, G.M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* 32: 79-99.
- Hallegraeff, G.M. 1995. Harmful algal blooms: a global overview, pp. 1-22. *In* G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson & A.D. Cembella (eds.). Manual of harmful microalgae. IOC Manuals and Guides No. 33, UNESCO. Paris.
- Hallegraeff, G.M. & S.W. Jeffrey 1984. Tropical phytoplankton species and pigments of continental shelf waters of North and North-West Australia. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 20: 59-74.
- Hallegraeff, G. & C. Bolch. 1992. Transport of dinoflagellate cysts in ship's ballast water: implications for plankton biogeography and aquaculture. *J. Plankton Res.* 14: 1067-1084.
- Hallegraeff, G.M. & Y. Hara. 1995. Taxonomy of harmful marine raphidophytes, pp. 365-372. *In* G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson & A.D. Cembella (eds.). Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC-UNESCO. Paris.
- Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella (eds.). 1995. Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC-UNESCO. Paris. pp. 551.
- Hamilton, R.D. 1979. Sterilization, pp. 181-193. *In* R.J. Stein (ed.). Handbook of phycological methods: culture methods and grow measurements. Cambridge University Press. Londres.
- Harrison, P.J., R.E. Waters & F.J.R. Taylor. 1980. A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton. *J. Phycol.* 16: 28-35.
- Henriksen, P., F. Knipschildt, Ø. Moestrup & H.A. Thomsen. 1993. Autoecology, life history and toxicology of the silicoflagellate *Dictyocha speculum* (Silicoflagellata, Dictyochophyceae). *Phycologia* 32: 29-39.
- Hernández-Becerril, D.U. 1993. Fitoplancton marino en México, pp. 39-53. *In* S.I. Salazar-Vallejo & N.E. González (eds.). Biodiversidad marina y costera de México. CONABIO & CIQRO, México.
- Hernández-Becerril, D.U. & E. Bravo-Sierra. 1999. Presencia del flagelado planctónico marino *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) en costas de México, pp. 9. *In* Resúmenes de la X Reunión de la Sociedad Mexicana de Planctología, A.C. 28-30 Abril 1999. Mazatlán, México.
- Hernández-Becerril, D.U. & E. Bravo-Sierra. 2001. Planktonic silicoflagellates (Dictyochophyceae) from the Mexican Pacific. *Bot. Mar.* 44: 417-423.
- Hernández-Becerril, D.U., E. Bravo-Sierra & Y. Ramírez-Valdéz. 2001. Coccolithophorids from the west coast of Baja California, Mexico. *Hydrobiologia* 452: 31-45.
- Hoek, C. van Den, D.G. Mann & H.M. Jahns (eds.). 1995. Algae: an introduction to phycology. Cambridge University, Cambridge, Inglaterra. 623 p.
- Hiroishi, S., H. Okada & I. Imai. 2000. Toxicity of *Chatonella ovata*, a novel species of *Chatonella*, to Red

- Sea bream *Pargus major*. Abstract. Harmful algal blooms, 9<sup>th</sup> Conference, Tasmania.
- Jeffrey, S.W. & M. Vesk. 1997. Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures, pp. 37-84. *In* S.W. Jeffrey, R.F.C. Mantoura & S.W. Wright (eds.). *Phytoplankton Pigments in Oceanography*. (UNESCO). Paris.
- Jensen, M.Ø. 1998. A new method for fixation of unmineralized Haptophytes for TEM (whole mount) investigations. *J. Phycol.* 34: 558-560.
- Keller, M.D., R.C. Selvin, W. Claus & R.R.L. Guillard. 1987. Media for the culture of oceanic ultra-phytoplankton. *J. Phycol.* 23: 633-638.
- Lee, J.J. 1993. General techniques for the isolation and culture of marine protists from estuarine, littoral, psammolittoral and sublittoral waters, pp. 41-50. *In* J.J. Lee (ed.). *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers.
- Lee, S.J., Y. Kim & H.G. Kim. 2000. Algalytic activity of alpha-mannosidase on harmful marine microalgae. *J. Appl. Phycol.* 12(2): 191-193.
- Malone, T.C. 1971a. The relative importance of nanoplankton and netplankton as primary producers in the California Current System. *Fishery Bull.* 69: 799-820.
- Malone, T.C. 1971b. The relative importance of nanoplankton and netplankton as primary producers in tropical oceanic and neritic phytoplankton communities. *Limnol. Oceanogr.* 16: 633-639.
- Marshall, J.A., P.D. Nichols & G.M. Hallegraeff. 2002. Chemotaxonomic survey of sterols and fatty acids in six marine raphidophyte algae. *J. Appl. Phycol.* 14: 255-265.
- Moestrup, Ø. 1979. Identification by electron microscopy of marine nanoplankton from New Zealand, including the description of four new species. *New Zeal. J. Bot.* 17: 61-95.
- Moestrup, Ø. 2002. Fitoflagelados potencialmente tóxicos en el Cono Sur Americano, pp. 155-166. *In* E.A. Sar, M.E. Ferrario & B. Reguera. *Floraciones Algas Nocivas en el Cono Sur Americano*. Instituto Español de Oceanografía, Madrid. España.
- Moestrup, Ø. & H.A. Thomsen. 1980. Preparation of shadow-casting whole mounts, pp. 385-390. *In* E. Gantt (ed.). *Handbook of phycolological methods: developmental and cytological methods*. Cambridge, Cambridge.
- Moestrup, Ø. & H.A. Thomsen. 1990. *Dictyocha speculum* (Silicoflagellata, Dictyochophyceae), studies on armoured and unarmoured stages. *Biol. Skrifter* 37: 1-56.
- Moestrup, Ø. & H.A. Thomsen. 1995. The taxonomy of Haptophytes (Prymnesiophytes), pp. 319-338. *In* G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson & A.D. Cembella (eds.). *Manual of harmful microalgae. IOC Manuals and Guides No. 33*, UNESCO. Paris.
- Odebrech, C & P.C. Abreu. 1995. Raphidophycean in southern Brazil. *Harmful Algal News. IOC-UNESCO.* 12/13: 4
- Olli, K., A.S. Heiskanen & J. Seppala. 1996. Development and fate of an *Eutreptiella gymnastica* bloom in nutrient-enriched enclosures in the coastal Baltic Sea. *J. Plank Res.* 18: 1587-1604.
- Pérez-Cruz, L. & A. Molina-Cruz. 1988. El Niño 1983: Efecto sobre la distribución de los silicoflagelados del Golfo de California. *Cien. Mar.* 14: 9-38.
- Pickett-Heaps, J.D. 1998. A rapid, highly efficient method for collecting, fixing and embedding planktonic and other small cells for electron microscopy. *J. Phycol.* 34: 1088-1089.
- Sar, E.A, M.E. Ferrario & B. Reguera. 2002. *Floraciones Algas Nocivas en el Cono Sur Americano*. Instituto Español de Oceanografía, Madrid. España. 311 p.
- Smayda, T.J. 1998. Ecophysiology and bloom dynamics of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae), pp. 113-131. *In* D.M. Anderson, A.D. Cembella & G.M. Hallegraeff (eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer, Berlin.
- Stabell, O.B., R.T. Aanesen & H.C. Eilertsen. 1999. Toxic peculiarities of the marine alga *Phaeocystis pouchetii* detected by *in vivo* and *in vitro* bioassay methods. *Aquat. Toxicol.* 44: 279-288.
- Thronsdén, J. 1969. Flagellates of Norwegian coastal waters. *Nytt Mag. Bot.* 16: 161-216.
- Thronsdén, J. 1976. Occurrence and productivity of small marine flagellates. *Norw. J. Bot.* 23: 269-293.
- Thronsdén, J. 1979. Special methods-micromanipulators, pp. 139-144. *In* R.J. Stein (ed.). *Handbook of phycolological methods: culture methods and grow measurements*. Cambridge. Londres.
- Thronsdén, J. 1997. The planktonic marine flagellates, pp. 591-729. *In* C.R. Tomas. (ed.). *Identifying Marine Phytoplankton*. Academic, San Diego.

- Thronsen, J. & A. Zingone. 1997. *Dolichomastix tenuileps* sp. nov., a first insight into the microanatomy of the genus *Dolichomastix* (Mamiellales, Prasinophyceae, Chlorophyta). *Phycologia* 36: 244-254.
- Tomas, C.R., M.G. Quick & M.D. Smith. 2001. *Fibrocap-sa japonica*. North Carolina Sea Grant. Marine Phytoplankton Identification Series. UNC-SG.02-04.
- Tomas, C.R., A.M. Bridgers & M.D. Smith. 2002. *Chatonella subsalsa* Biecheler. North Carolina Sea Grant. Marine Phytoplankton Identification Series. UNC-SG.02-05.
- Villarino, M.L., F.G. Figueiras & K.J. Jones. 1995. Evidence of *in situ* diel vertical migration of a red-tide microplankton species in Ria de Vigo (NW Spain). *Mar. Biol.* 123: 607-617.
- Winter, A. & W.G. Siesser. (eds.). 1994. *Coccolithophores*. Cambridge, Cambridge. 242 p.

#### REFERENCIAS DE INTERNET

- IOC-UNESCO. 2002. Taxonomic Reference List of Toxic Algae, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO (Consultado: 23 de setiembre, 2004, <http://ioc.unesco.org/hab/data4taxlist.htm>).