

## Presencia de los dinoflagelados *Ceratium dens*, *C. fusus* y *C. furca* (Gonyaulacales: Ceratiaceae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica

Maribelle Vargas-Montero<sup>1</sup> & Enrique Freer<sup>1,2</sup>

1 Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas, Universidad de Costa Rica, Apdo. Postal 2060, San José, Costa Rica.

2 Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica, Apdo. Postal 2060, San José, Costa Rica. Fax: (506) 207-3182; vmontero@cariari.ucr.ac.cr

Recibido 31-X-2002. Corregido 21-IX-2003. Aceptado 11-XII-2003.

**Abstract:** Harmful Algae Blooms (HAB) are a frequent phenomenon in the Gulf of Nicoya, Costa Rica, as in other parts of the world. The morphology and physiology of these microalgae are important because HAB species have adaptive characteristics. The production of high concentrations of paralytic toxins by *Ceratium* dinoflagellates has only been documented at the experimental level. However, this genus has been associated with the mortality of aquatic organisms, including oyster and shrimp larva, and fish, and with decreased water quality. Recently, fishermen reported massive mortality of encaged fish near Tortuga Island (Gulf of Nicoya). Samples were taken from an algal bloom that had produced an orange coloration and had a strong foul-smelling odor. Ultrastructural details were examined with scanning electron microscopy. The dinoflagellates *Ceratium dens*, *C. furca* and *C. fusus* were found in samples taken at the surface. The cell count revealed four million cells of this genus per liter. The morphological variability of these species is high; therefore electron microscopy is an useful tool in the ultrastructural study of these organisms. This is the first time that three *Ceratium* species are reported concurrently producing harmful blooms in Costa Rica.

**Key words:** Harmful algae blooms, *Ceratium*, ultrastructure, electron microscopy.

**Palabras clave:** Proliferaciones algales nocivas, *Ceratium*, ultraestructura, microscopía electrónica.

Las proliferaciones algales nocivas (PAN) usualmente denominadas “mareas rojas”, se deben al aumento en la concentración de determinadas especies de microalgas, incluyendo dinoflagelados, propios del fitoplancton autóctono de una determinada zona. Estos fenómenos son frecuentes en el Golfo de Nicoya (10° N, 85° W), Costa Rica, lo que se ha documentado desde 1981 (Hargraves y Víquez 1981, Mata *et al.* 1990, Víquez y Hargraves 1995).

Los dinoflagelados formadores de proliferaciones algales no son capaces de nadar contra corriente, por lo que se desplazan principalmente debido a las corrientes de agua. Las características morfológicas y fisiológicas de este grupo son importantes, ya que las especies que producen PAN tienen características

adaptativas; por ejemplo, la presencia de vacuolas de gas, la formación de colonias, la producción de espinas y el uso de alas externas o inclusive la formación de cadenas para optimizar la capacidad de desplazamiento (Glibert *et al.* 2001).

Las proliferaciones causadas por los dinoflagelados del género *Ceratium* son comunes en algunas partes del mundo, como se ha documentado en México (Cortés *et al.* 2000) y en la Bahía de Chesapeake (EE.UU.) (Hallegraeff *et al.* 1995).

Aunque no se ha confirmado la toxicidad del género *Ceratium*, las especies *C. fusus* y *C. furca* han sido asociadas con eventos de este tipo. La primera se reportó con mortalidades de peces en Tailandia y Japón debido a una

disminución del oxígeno disuelto (Taylor *et al.* 1995, Fukuyo *et al.* 1990). También, se ha encontrado causando mortalidad en larvas de *Ostrea lurida* (ostra del Pacífico) (Landsberg 2002), en postlarvas de camarón en México (Cortés *et al.* 1997) y en larvas de otros invertebrados (Hallegraeff *et al.* 1995).

En tanto *C. furca* se identificó en Venezuela como causante de mortalidad en organismos benthicos y sardinias *Centenraulis edentulus*; el análisis indicó la presencia de concentraciones altas de toxinas paráliticas en los cadáveres de los peces, sin embargo este hecho no ha sido confirmado en otras regiones (Mijares *et al.* 1985).

En este artículo se informa el hallazgo simultáneo de *C. dens*, *C. furca* y *C. fusus* en una proliferación algal nociva y se provee la información taxonómica básica para la identificación morfológica de este género.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron muestras frescas superficiales de una PAN que presentaba una coloración naranja y emanaba un olor fétido fuerte. El evento se presentó frente a las costas de Puntarenas (Golfo de Nicoya, Pacífico central de Costa Rica) durante el mes de diciembre de 1999. Las muestras se dividieron en dos porciones; una se fijó con solución de lugol para su posterior conteo y caracterización; la otra se fijó en solución de Karnovsky (Karnovsky 1965) en amortiguador de cacodilato de sodio (0.1M, pH 7.4), para su análisis con el microscopio electrónico de rastreo.

La muestra fijada en Karnovsky se sometió a un proceso rápido empleando un horno doméstico de microondas (Hernández y Vargas 2000) lo que incluyó los pasos desde la fijación hasta la deshidratación. Luego se secó en punto crítico utilizando CO<sub>2</sub> y se montó sobre bases de aluminio, se recubrió con una capa de 30 nm de platino y se observó en un microscopio electrónico de rastreo (Hitachi S-2360 N).

## RESULTADOS

Los organismos encontrados en las muestras analizadas fueron *Ceratium dens*, *C. furca* y *C. fusus*. El conteo celular fue de  $4 \times 10^6$  células/l. Cerca del sitio de recolecta, en la Isla Tortuga, los pescadores del área informaron la mortalidad masiva de peces enjaulados (com. pers.).

La especie *C. dens* está integrada por organismos cuyas células son alargadas, con un cuerno apical prominente y delgado y con dos cuernos antiapicales, el izquierdo fuertemente separado hacia un extremo, formando un ángulo de 180 grados (Fig. 1A). El cingulo es excavado y está bordeado por radios y alas. El sulcus está localizado a la izquierda del área ventral formada por una hendidura muy ancha y cubierta de poros en su interior. Sus dimensiones son de aproximadamente 230  $\mu\text{m}$  de largo por 51  $\mu\text{m}$  de ancho. Este dinoflagelado presenta una pared reticulada y cubierta por poros que sobresalen de su superficie, estos miden aproximadamente 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, como se puede observar en su placa precingular en la Fig. 1B.

Las células de *C. furca* tienen un aspecto menos alargado que la anterior; el extremo apical termina en un cuerno rodeado por hileras de poros (Fig. 1C), además posee dos cuernos antiapicales, el derecho menos largo que el izquierdo, rodeados por pequeñas espinas; ambos cuernos están dispuestos en ángulo recto a diferencia de *C. dens*. Las dimensiones de la célula son aproximadamente 110  $\mu\text{m}$  de largo por 30  $\mu\text{m}$  de ancho. La pared celular es reticulada y está cubierta por poros, cuyos bordes no sobresalen como en el caso de *C. dens* y su diámetro es de aproximadamente 0.3  $\mu\text{m}$  (Fig. 1D).

*C. fusus*, a diferencia de las dos especies anteriores, es un organismo comprimido dorso-ventralmente, cuyas dimensiones son de aproximadamente 280  $\mu\text{m}$  de largo por 16  $\mu\text{m}$  de ancho. Estos organismos son fusiformes y poseen un cuerno apical prominente, localizado

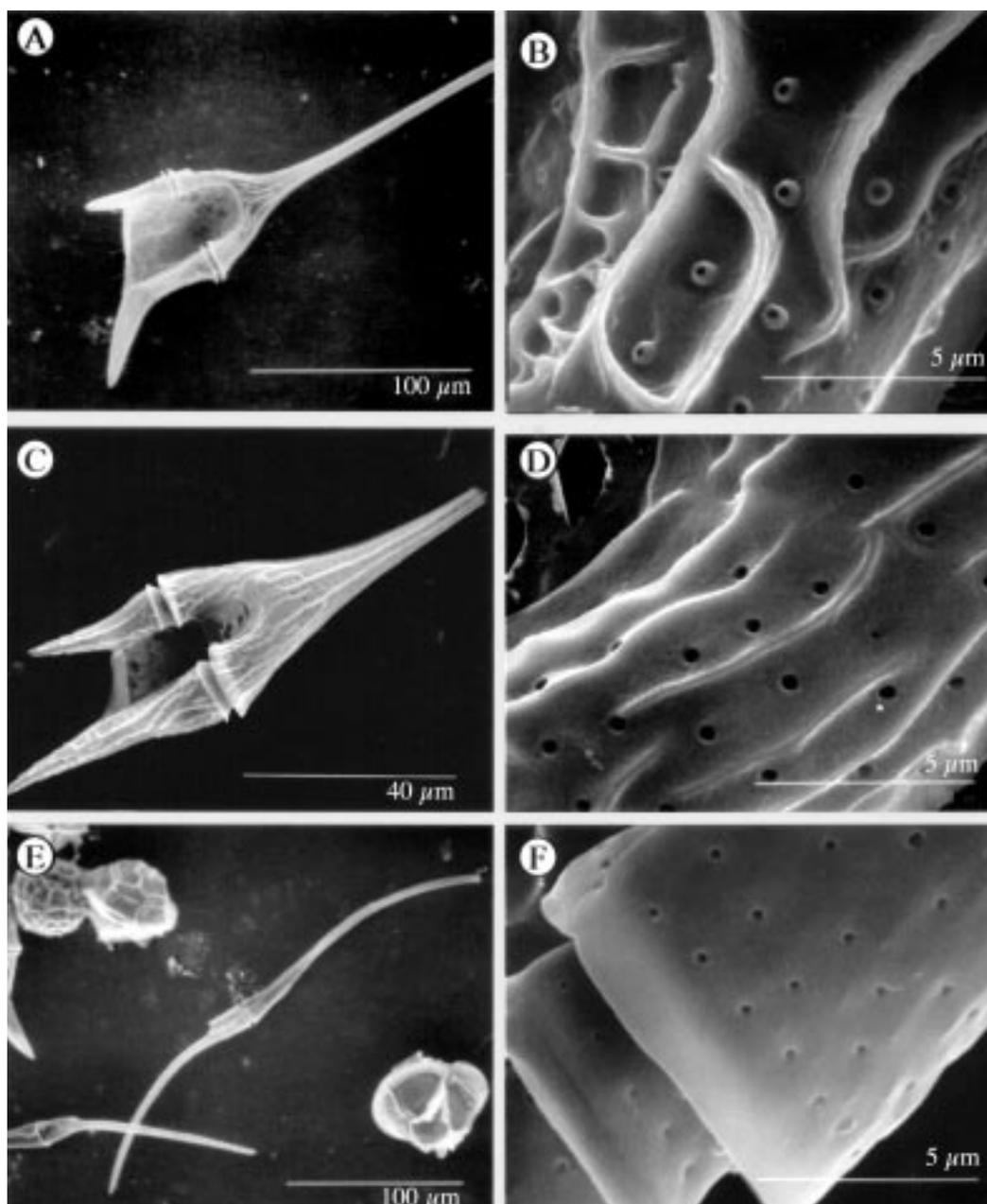


Fig. 1. **MEB.** **A.** *C. dens*, célula completa en vista ventral, **B.** Idem., detalle de la placa precingular 1". **C.** *C. furca*, célula completa en vista ventral, **D.** Idem., detalle de la placa precingular 1". **E.** *C. fusus* en vista ventral, **F.** Idem., detalle de la placa precingular 1".

Fig. 1. **SEM.** **A.** *C. dens*, complete cell in lateral view, **B.** Idem., detail of precingular plate 1". **C.** *C. furca*, complete cell in ventral view, **D.** Idem., detail of the precingular plate 1". **E.** *C. fusus* in ventral view, **F.** Idem., detail of the precingular plate 1".

hacia la parte posterior de la célula; además, tiene un cuerno antiapical en la misma dirección que el anterior y rodeado por espinas. Su costado derecho presenta un vestigio del segundo cuerno antiapical (Fig. 1E). El cingulo es excavado, sin alas y la pared está cubierta por diminutos poros ubicados linealmente y cuyas dimensiones son de 0.1  $\mu\text{m}$  de diámetro (Fig. 1F).

## DISCUSIÓN

El género *Ceratium* está compuesto por dinoflagelados tecados cuyas placas son altamente reticuladas y están cubiertas de espinas y protuberancias con poros, cuyos bordes levantados sobresalen de la pared y son diferentes en las diversas especies del género. Se caracterizan por poseer de dos a tres cuernos de los cuales uno es apical y los otros dos son antiapicales (Balech 1988). Una característica particular de este género es la presencia de un área excavada muy amplia en su parte ventral. Uno de estos cuernos antiapicales puede ser rudimentario, tal es el caso de la especie *C. dens* proveniente del Golfo de California (Cortés-Altamirano y Núñez 2000). De todos los especímenes de *C. furca* medidos, no encontramos organismos cuyas dimensiones celulares fueran mayores de 110  $\mu\text{m}$  de largo, a diferencia de los especímenes de aguas venezolanas cuyas dimensiones son de 165 a 172  $\mu\text{m}$  de largo y de los especímenes de Puerto Rico cuyas dimensiones son de 184-210  $\mu\text{m}$  de largo. Asimismo, la especie *C. fusus* de Costa Rica mide 280  $\mu\text{m}$  de largo a diferencia de la especie Venezolana (420-427  $\mu\text{m}$ ) y la puertorriqueña (435  $\mu\text{m}$  de largo) (La Barbera Sánchez 1993, Hernández-Becerril y Navarro 1996). A pesar de esta diferencia significativa en el largo de los organismos, la morfología parece ser similar con la de nuestras especies. La microscopía electrónica es una herramienta muy útil en el estudio ultraestructural de microorganismos, y es especialmente útil en la identificación de especies de dinoflagelados, pues en algunos casos las diferencias son tan sutiles que escapan

a la resolución del microscopio de luz; como el caso de las variedades de *P. bahamense*, cuya diferenciación entre otras cosas es la aparición de una espina apical, siendo la variedad *compressum* tóxica y la variedad *bahamense* no tóxica. Por lo tanto es importante tener presente tal herramienta para el estudio rápido de PAN, pues el diagnóstico puede hacerse en unas pocas horas.

*C. dens* es un dinoflagelado que produce mareas rojas en diversas partes del mundo y ha sido observado produciendo estos fenómenos en áreas altamente productivas (Cortés y Núñez 2000). Sin embargo, nunca se ha asociado a este grupo de dinoflagelados con la producción de toxinas. Cortés y Alonso (1997) propusieron que la especie *C. dens* era responsable de la mortalidad de nauplios observada durante una proliferación algal ocurrida en la Bahía de Mazatlán, debido a su abundancia y elevada biomasa durante ese evento. Estos mismos autores informaron de la asociación de *C. tripos* y *C. fusus* y la mortalidad de estadios larvales y adultos de ostiones.

*C. furca* es un dinoflagelado mixotrófico, pues es fotosintético y también se alimenta de material particulado (Tomas 1997); posiblemente esta especie dominó la mancha, al tener una ventaja competitiva sobre otros miembros del fitoplancton. *C. furca* está comprobado que produce hiperoxia y anoxia (Landsberg 2002).

En el Golfo de Nicoya, los vientos provienen del N-NE y provocan fuertes corrientes que en algunas ocasiones producen trombas marinas, principalmente a principios de año. Además, se sabe que las corrientes netas en el golfo son diferenciadas, observándose que en la superficie se dirigen hacia el océano y en el fondo penetran (Mata y Blanco 1994). La estratificación de las aguas en este Golfo, podría ser la responsable de la incidencia de estos fenómenos y de la variedad de especies que imperan en él.

Desde que se produjo una PAN en 1989 (Mata *et al.* 1990) dominada principalmente por el dinoflagelado tóxico *Pyrodinium bahamense* var. *compressum*, se han notificado otros eventos causados con otras especies; sin

embargo, ésta es la primera vez que se notifica una PAN en Costa Rica asociada con tres especies del género *Ceratium*.

Esperamos que esta contribución al estudio taxonómico de los dinoflagelados en Costa Rica sea de utilidad en el área Mesoamericana, donde podrían repetirse eventos como el descrito aquí.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad de Costa Rica por la valiosa colaboración recibida.

#### RESUMEN

Las proliferaciones algales nocivas (PAN) son un fenómeno frecuente en el Golfo de Nicoya. La morfología y fisiología de estas microalgas son muy importantes debido al hecho de que las especies involucradas en estos eventos presentan características adaptativas. PAN producidas por dinoflagelados del género *Ceratium* son comunes en algunas partes del mundo, sin embargo, a pesar del hecho de que la producción de altas concentraciones de toxinas parálíticas sólo se ha documentado a nivel experimental, éste género ha sido asociado con la mortalidad de organismos acuáticos y con la disminución en la calidad del agua, así como el responsable de la mortalidad de ostras y larvas de gambas. Algunas especies del género *Ceratium* han sido asociados con eventos de mortalidad en peces. Durante un reciente fenómeno PAN que ocurrió cerca de la Isla Tortuga en el Golfo de Nicoya, los pescadores en el área informaron muertes masivas de peces enjaulados. Se tomaron muestras de una PAN que producía una discoloración anaranjada en el agua y tenía un olor fétido. Estas muestras fueron procesadas para observar el detalle ultraestructural usando el microscopio electrónico. En muestras tomadas en superficie, los dinoflagelados observados fueron *Ceratium furca*, *C. fusus* y *C. dens*. El conteo celular reveló cuatro millones de células de este género por litro. Los cambios morfológicos de estas especies son muy variables; por consiguiente la microscopía electrónica es una herramienta muy útil en el estudio ultraestructural de estos organismos. Esta es la primera vez que tres especies del género *Ceratium* se conocen como productoras concurrentes de PAN en Costa Rica.

#### REFERENCIAS

- Balech, E. 1988. Los Dinoflagelados del Atlántico Subocidental. Publicaciones especiales, Instituto Español de Oceanografía. Número 1. 310 p.
- Cortés, R. & R. Alonso. 1997. Mareas rojas durante 1997 en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. 1997. Rev. Cien. Mar. U.A.S. 15: 31-37
- Cortés, R. & A. Núñez. 2000. Distribución y abundancia anual de *Ceratium dens* (Peridiniales: Ceratiaceae) en el Golfo de California, México. Rev. Biol. Trop. 48: 305-311.
- Glibert, P.M. & G. Pitcher. 2001. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms. Science Plan. An International Programme Sponsored by the Scientific Committee on Oceanic Research (SCOR) and the Intergovernmental Oceanographic Commission (UNESCO). 86 p.
- Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson & A.D. Cembella. 1995. Manual of Harmful Marine Microalgae. Intergovernmental Oceanographic Commission. 551 p.
- Hargraves, P. & R. Víquez. 1981. The dinoflagellate red tide in Golfo de Nicoya, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 29: 31-38.
- Hargraves, P. & R. Víquez. 1985. Spatial and temporal distribution of phytoplankton in the Gulf of Nicoya, Costa Rica. Bull. Mar. Sci. 37:577-585.
- Hernández-Becerril, D. & N. Navarro. 1996. Thecate dinoflagellates (Dinophyceae) from Bahía Fosforescente, Puerto Rico. Rev. Biol. Trop. 44: 465-475.
- Hernández, F. & R. Guillén. 2000. Microwave Processing for Scanning Electron Microscopy. Eur. J. Morphol. 38: 109-111.
- La Barbera Sánchez, A. 1993. Dinoflagelados de la región Nor-Oriental de Venezuela. Centro de Investigaciones Agropecuarias de Estado de Sucre, Cumaná, Venezuela. 93 p.
- Landsberg, J. 2002. The Effects of Harmful Algae Blooms on Aquatic Organisms. Rev. Fish. Sci. 10 (2): 1-412.
- Mata L., G. Abarca, L. Marranghello & R. Víquez. 1990. Intoxicación parálítica por mariscos (IPM) por

- Spondylus calcifer* contaminado con *Pyrodinium bahamense*, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 38: 129-136.
- Mata, A. & O. Blanco. 1994. La Cuenca del Golfo de Nicoya: un reto al desarrollo sostenible. Universidad de Costa Rica. 235 p.
- Mijares, A.J., C. Sevcik, C.A. Barboza & J.A. Saavedra. 1985. Ichthyotoxism by a paralytic toxin produced by marine dinoflagellates of the genus *Ceratium*: relationship to fraction  $\beta$  isolated from the sponge *Tedania ignis*. Toxicon 23: 221-233.
- Tomas, C.R. (ed.) 1997. Identifying marine phytoplankton. Academic. New York. 858 p.
- Viquez, R. & P. Hargraves. 1995. Annual cycle of potentially harmful dinoflagellates in the Golfo de Nicoya, Costa Rica. Bull. Mar. Sci. 57(2): 467-475.