

IMPORTANCIA DE LA ACLIMATACIÓN Y CULTIVO DE LOS DINOFLAGELADOS TÓXICOS *Cochlodinium polykrikoides* (MARGALEF, 1961) Y *Gymnodinium catenatum* (GRAHAM, 1943)

¹Frausto-Sotelo Elizabeth Dalila, ²Martínez-Tecuapacho Gladys Anahí y ³Alonso-Rodríguez Rosalba

Palabras clave: *C. polykrikoides*, *G. catenatum* DINOFLAGELADOS, ACLIMATACIÓN, CULTIVO.

¹Centro de Estudios Tecnológicos del Mar No. 26. Ave. Teniente Azueta s/n C.P. 63740, San Blas, Nayarit

elizabeth_dfs@hotmail.com

^{2,3}Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Joel Montes Camarena s/n, 820140, Mazatlán, Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

Desde hace tres décadas cambió la apreciación del impacto de los florecimientos algales nocivos (FAN's) y del daño que provocan a los ecosistemas marinos, los cuales son provocados principalmente por dinoflagelados tóxicos y pueden desarrollarse por causas naturales y antropogénicas, de estas últimas destaca su asociación a la eutrofización de las zonas costeras y su expansión, al transporte y descarga de quistes y/o células vegetativas en el agua de lastre de embarcaciones (Hallegraeff, 2003). Al año 2004, en México se habían reportado 500 episodios de intoxicación humana por toxinas paralizantes, con 22 defunciones. Estos episodios en su mayoría fueron ocasionados por el consumo de moluscos bivalvos contaminados con toxinas producidas por el dinoflagelado *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* (INP-Sagarpa, 2004). Aunque el impacto de *G. catenatum* en México es menor que en otros países, se debe tomar en cuenta que estos eventos van en aumento, principalmente en zonas turísticas, de pesca o de intensa actividad acuícola (Alonso-Rodríguez y Páez-Osuna, 2003). Con el fin de predecir y minimizar el impacto de este fenómeno, agencias pertenecientes a la UNESCO han planteado programas de investigación interdisciplinarios, en los que se contempla la definición de las características biológicas y las adaptaciones que determinan cómo, cuándo y bajo qué condiciones las microalgas nocivas se presentan y producen sus efectos dañinos. Para lograr este objetivo, es necesario que primero se aislen y se mantengan cepas en cultivo y se formalice el establecimiento de colecciones de referencia (Uribe y Montecino, 2007; Morquecho-Escamilla, 2004).

OBJETIVO GENERAL

Aclimatar y desarrollar cultivos masivos de los dinoflagelados tóxicos *C. polykrikoides* y *G. catenatum* con fines experimentales.

METODOLOGÍA

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (UNAM). Las cepas fueron adquiridas de la **CO**lección de **DI**noflagelados **MAR**inos (CODIMAR del CIBNOR La Paz, B.C.S.), en octubre del 2009 y posteriormente se inició el proceso de aclimatación de los dinoflagelados tóxicos *C. polykrikoides* (CPPV-1) y *G. catenatum* (GMV-2) en medios de cultivo GSe y f/2+Se (Guillard y Ryther, 1962; Doblin *et al.*, 1999). Para iniciar el cultivo de los dinoflagelados fue necesario adecuar las condiciones que favorecieran el crecimiento de las dos cepas, 23°C ± 2°C, ciclos de luz/oscuridad 12:12 hrs y 75 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica (Yamamoto *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004). Los medios de cultivo se prepararon con agua de mar filtrada (0.22 μm) con salinidad de 36‰ y reactivos grado analítico. El escalamiento del dinoflagelado se inició en tubos de ensaye de vidrio (50 mL) hasta llegar a matraz Erlenmeyer de vidrio de (0.25, 0.5, 1.0, 2.0, y 4.0 L) de capacidad, posteriormente a frascos vitroleros de 20 L (Dorantes-Aranda, 2006).

RESULTADOS

El periodo de aclimatación duró aproximadamente tres meses, iniciando en octubre del 2009 (fecha en que se recibieron las cepas de la CODIMAR), bajo las condiciones descritas anteriormente (T° y S‰). Las cepas obtenidas se emplearon para desarrollar investigaciones como: Utilización de *G. catenatum* para determinar el efecto del medio de cultivo y para la determinación y cuantificación de toxinas paralizantes (Martínez-Tecuapacho, 2009), así como para determinar la tasa de remoción de *G. catenatum* y *C. polykrikoides* mediante el uso de varios tipos de arcillas (Frausto-Sotelo, 2009). Se observó que la tasa de división celular promedio de *G. catenatum* en este estudio fue de 0.11 y 0.17 divisiones día⁻¹ en medio GSe. Para este dinoflagelado se observaron cuatro fases de crecimiento: exponencial, crecimiento desacelerado, estacionaria y de muerte (**Fig. 1**).

Las células de *C. polykrikoides* se observaron generalmente como células solitarias o formando cadenas de 2 células y ocasionalmente cadenas de cuatro células. Las dimensiones de las células fueron de 30-40 μm de longitud y 20-30 μm de ancho. Para *G. catenatum* generalmente se observaron células solitarias o en cadenas de cuatro células, con dimensiones de 35-40 μm de longitud y 30-35 μm de ancho.

Las densidades máximas de células alcanzadas fueron de 1000 cel/ml para *C. polykrikoides* y de 1000 cel/ml en enero del 2009 y de 5000 cel/ml para *G. catenatum* y de 4000 cel/ml para *C. polykrikoides* en Marzo 2010.

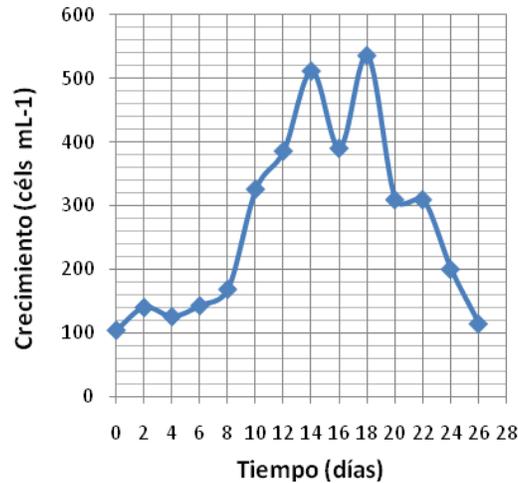


Figura 1. Curva de crecimiento de *Gymnodinium catenatum* crecida en medio de cultivo GSe. (Mártínez, 2009).

DISCUSIÓN

La aclimatación se considera una etapa fundamental para el crecimiento y cultivo de las microalgas, ya que de ésta dependerán los resultados en el crecimiento el cual puede llevarse tiempo ya que pueden pasar hasta 6 generaciones para que las microalgas se lleguen a aclimatar (Voltolina *et al.*, 1998). Se observó la producción de mucus como lo reportado por Kim *et al.* (1999), por lo que se agitaron los recipientes de cultivo una vez al día con movimientos horizontales y circulares para prevenir la acumulación de dinoflagelados en la producción de mucus.

En trabajos similares, Band *et al.* (2004) observaron una tasa de división celular de 0.14 a 0.31 divisiones día⁻¹. En los estudios sobre el crecimiento de *G. catenatum*, se observan diferencias en la tasas de división celular, indicando la adaptación del dinoflagelado en regiones donde se le ha encontrado, ya que muestra un crecimiento específico para cada lugar.

En el caso del cultivo de *C. polykrikoides* no se llevó a cabo la tasa de crecimiento pero se tomó como referencia lo reportado por Dorantes *et al.* (2006), ya que aclimató y cultivó la misma cepa a condiciones muy similares a las del presente trabajo. Este autor reporta una tasa de crecimiento de 0.39 div. día⁻¹ y mostró cuatro fases de crecimiento: exponencial, crecimiento desacelerado, estacionaria y de muerte, mismas reportadas en este estudio.

En el caso de las dos cepas se inició el escalamiento después de dos meses y se observó que las cepas aun no estaban muy estables por lo que se recomienda darles más tiempo de aclimatación para que tengan un buen crecimiento.

CONCLUSIÓN

Se logró aclimatar y desarrollar cultivos masivos de los dos dinoflagelados tóxicos *C. polykrikoides* y *G. catenatum* y posteriormente fueron utilizados en otras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Rodríguez, R. y Páez-Osuna, F. (2003). Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219 (1-4): 311-339.
- CODIMAR. Morquecho L., 2008. <http://cibnor.mx/eplant1.php?pagID=colecciones/codimar/codimar>
- Doblin, M. A., Blackburn, S. I. y Hallegraeff, G. M. (1999). **Comparative study of selenium requirements of three phytoplankton species: *Gymnodinium catenatum*, *Alexandrium minutum* (Dinophyta) and *Chaetoceros cf. tenuissimus* (Bacillariophyta).** *Journal of Plankton Research* 21 (6): 1153-1169.
- Dorantes-Aranda, J. J. (2006). Efecto ictiotóxico del dinoflagelado *Cochlodinium polykrikoides* (Margalef, 1961) en el pargo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Tesis de Maestría. UNAM. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, ICML Unidad Académica. Mazatlán, 67 p.
- Frausto-Sotelo, E. D. (2009). Evaluación experimental de tres arcillas para el control de florecimientos algales nocivos ocasionados por los dinoflagelados tóxicos *Cochlodinium polykrikoides* (Margalef, 1961) y *Gymnodinium catenatum* (Graham, 1943) y su utilidad en la camaronicultura. Tesis de Maestría. ITMAZ. Posgrado en Ciencias en pesquerías sustentables, 61 p.
- Guillard, R. R. L. y Ryther, J. H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms. *Canadian Journal of Microbiology* 8: 229-239.
- Hallegraeff, G. M. (2003). Harmful algal blooms: a global overview. pp. 1-22. *En*: Hallegraeff, G. M., Anderson, D. M. y Cembella, A. D. (Eds.). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. UNESCO Publishing. París, 793p.
- INP-SAGARPA. 2004. Registro de mareas rojas en el Pacífico Sur de 1985 a 2004. *En*: Juárez, R. N., Ramírez, C. C. y Barón, C.S. (Compiladores). Dirección General de Investigaciones Pesqueras Pacífico Sur, Instituto Nacional de la Pesca, SAGARPA. pp. 1. <http://fans.cicese.mx/publicaciones/noticias/Cuadro%20Mareas%20Rojas%20Pacifico%20Sur-SEMARNAT.xls>
- Kim, C. S., Lee, S. G., Lee, C. K., Kim, H. G. y Jung, J. (1999). Reactive oxygen species as causative agents in the ichthyotoxicity of the red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. *Journal of Plankton Research* 21(11): 2105-2115.
- Kim, D., Matsuyama, Y., Nagasoe, S., Yamaguchi, M., Ion, Y., Oshima, Y., Imada, N. y Honjo, T. (2004). Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). *Journal of Plankton Research* 26(1): 61-66.

- Martínez-Tecuapacho, G. A. (2009). Efecto del medio de cultivo en el crecimiento y toxicidad del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum* Graham, aislado de la bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis de licenciatura. Tecnológico de Estudios Superiores Huixquilucan. 63 p.
- Morquecho-Escamilla, L. (2004). CODIMAR, Colección de dinoflagelados marinos (CIBNOR). En: Carnevali G. F.C., Sosa, V., León de la Luz, J. L. y León-Cortés J. (Editores). Colecciones Biológicas Conacyt. 126 pp.
- Uribe P. y Montecino V. (2007). Preliminary studies of the luminescence as an early detection tool of toxic dinoflagellates in the fjords and channels area of Aysén región: Ciencia y Tecnología del Mar. 30 (2): 51-62.
- UTEX. 1976. The Culture collection of algae. Medio Detail. At the University of Texas at Austin. Web: <http://www.utex.org/>
- Voltolina, D., Nieves, M., Navarro, G., Oliva, T. y Peraza, D. (1998). The importance of acclimation for the evaluation of alternative media for microalgae growth. *Aquacultural Engineering* 19 (1): 7-15.
- Yamamoto, T., Oh, S. J. y Kataoka, Y. (2002). Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) isolated from Hiroshima Bay, Japan. *Fisheries Science* 68(2): 356-363.



Figura No. 2. *Cochlodinium polykrikoides* (Margalef, 1961)



Figura No. 3. *Cochlodinium polykrikoides* (Margalef, 1961)



Figura No. 4. *Gymnodinium catenatum* (Graham, 1943)

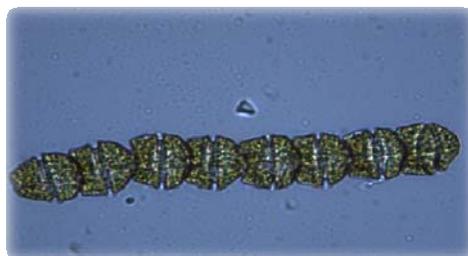


Figura 5. *Gymnodinium catenatum* (Graham, 1943)