

TALLER  
ESTUDIOS SOBRE ALGAS NOCIVAS EN EL MARCO DEL REGLAMENTO SOBRE PLAGAS  
HIDROBIOLÓGICAS, 2013



**Observaciones sobre *Alexandrium catenella*,  
*A. ostenfeldii* y *A. cf. tamarense* en la región  
sureste de Chiloé**

XIMENA VIVANCO TAPIA  
Instituto de Fomento Pesquero – IFOP  
División de Investigación en Acuicultura  
25 DE JUNIO DE 2013



# Desarrollo

## Características dinoflagelados

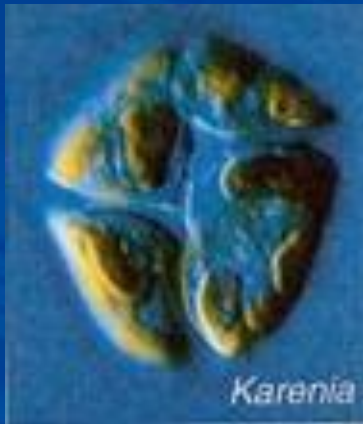
- Peridiniales vs. Gonyaulacales
- Género *Alexandrium*
- Especies de interés:
  - Características morfológicas - distribución mundial
  - Criterios para identificación en muestras del sur de Chile
- Registros de *A. cf. tamarense* en Los Lagos
- Metodologías para identificación especies
  - Epifluorescencia – Ventajas y costos



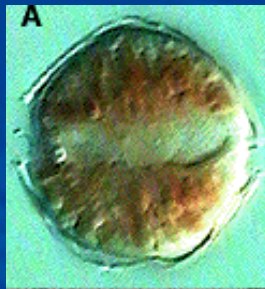
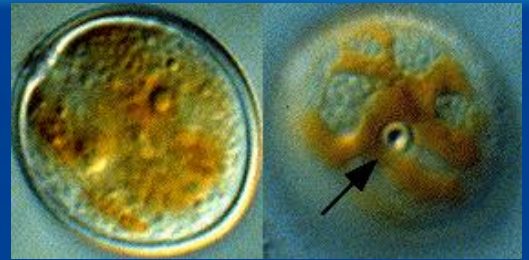
# Características Dinoflagelados

- Pertenece junto a Protozoos ciliados, Apicomplexa y otros al Grupo Alveolata (Keeling, 2004)
- División Dinophyta
  - ☑ Clase Dinophyceae
    - ◆ SubClase Peridiniphyceidae
      - » Orden Gonyaulacales
        - Familia Gonyaulacaceae
      - » Orden Peridiniales
        - Familia Protoperidiniaceae





Karenia



A



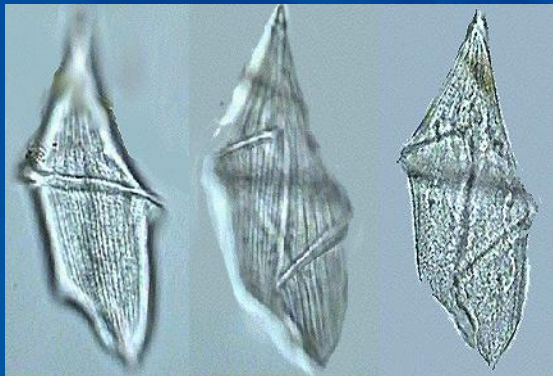
Ceratium



Polykrikos



Protoperidinium



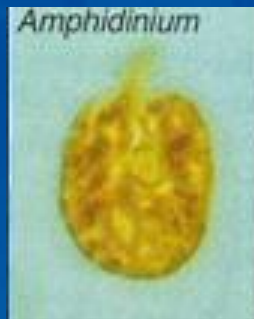
Prorocentrum



Kofoidinium



Ceratium



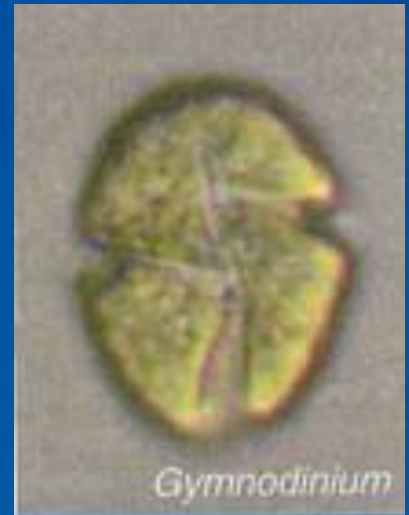
Amphidinium



Gymnodinium

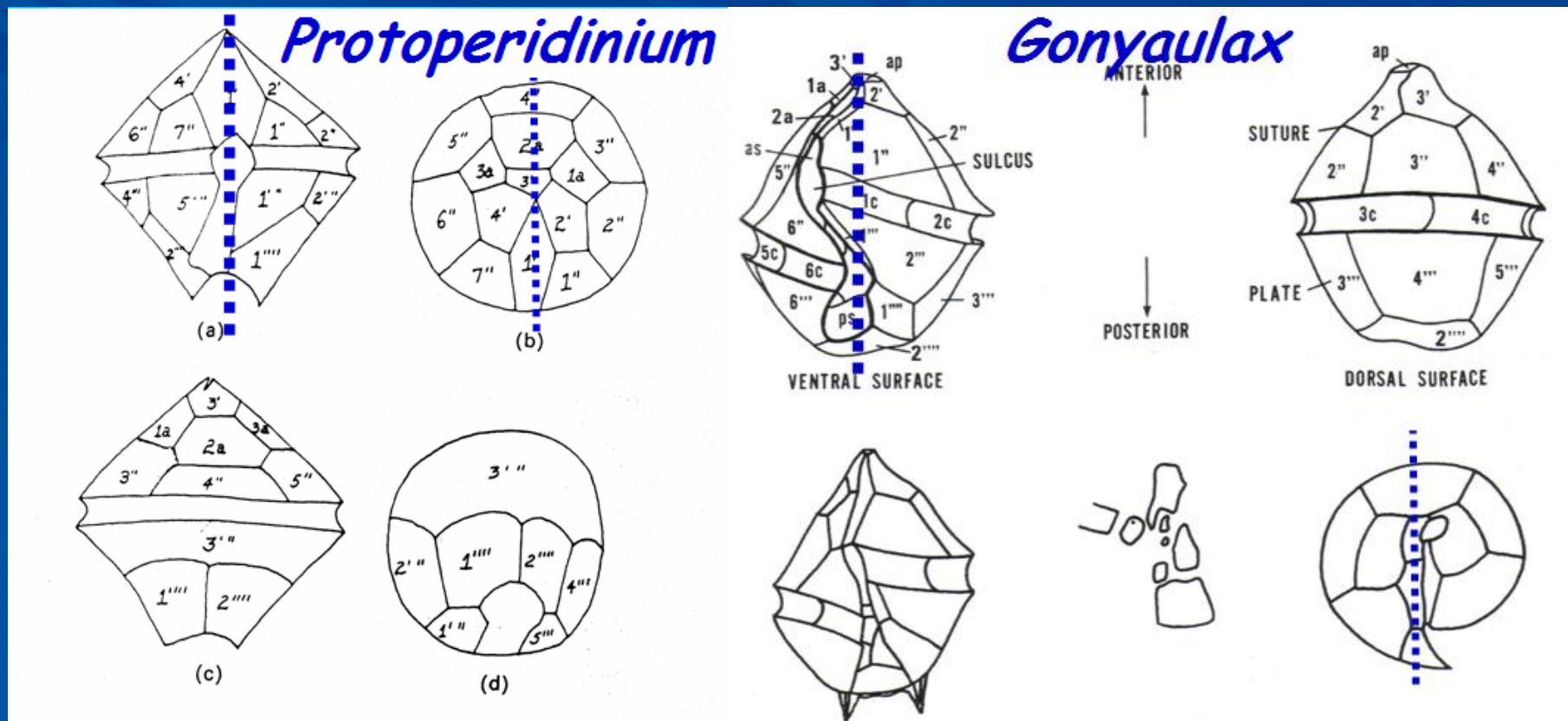


Dinophysis



Gymnodinium

# Peridinales vs. Gonyaulacales

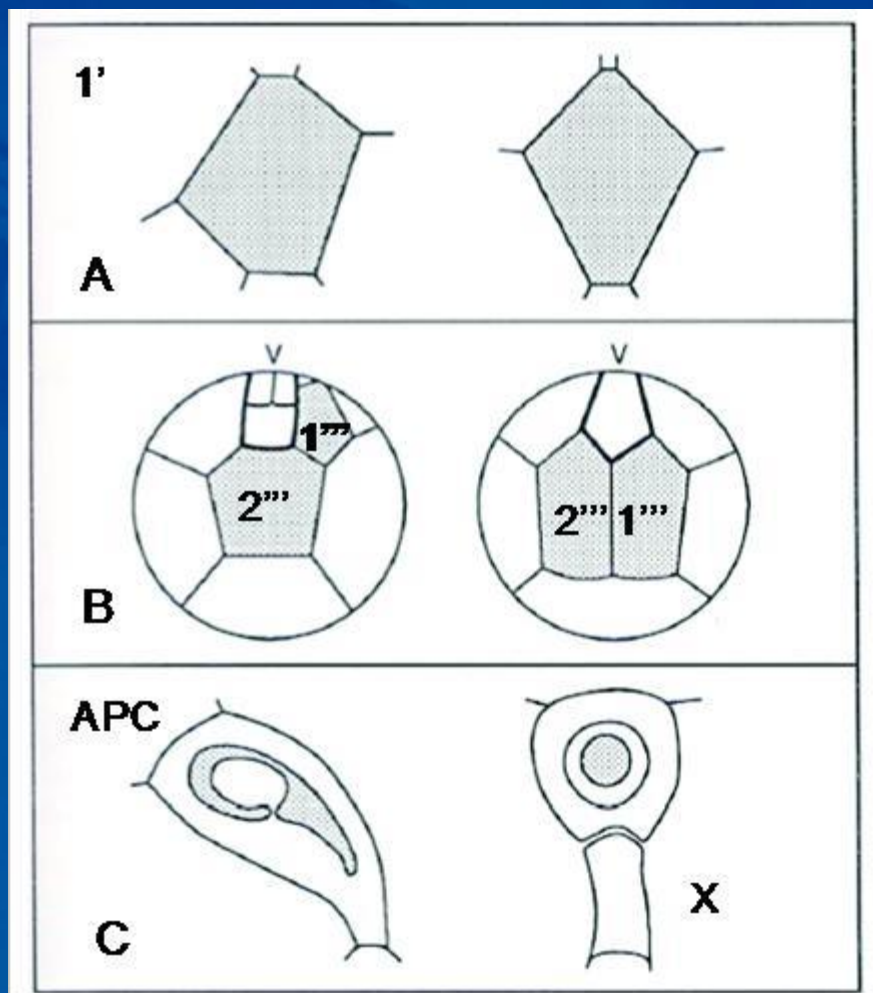


Comparación morfología general entre peridinales y gonyaulacales

(Adaptado de Larsen, 2011)

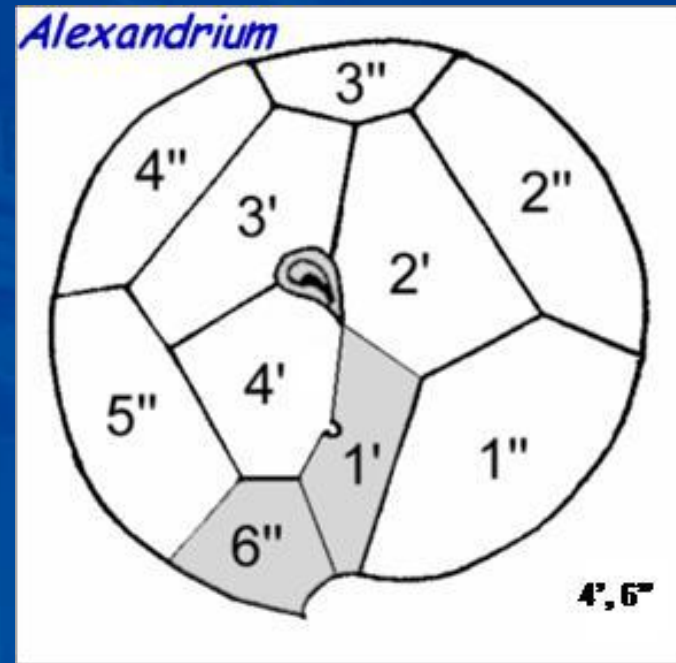
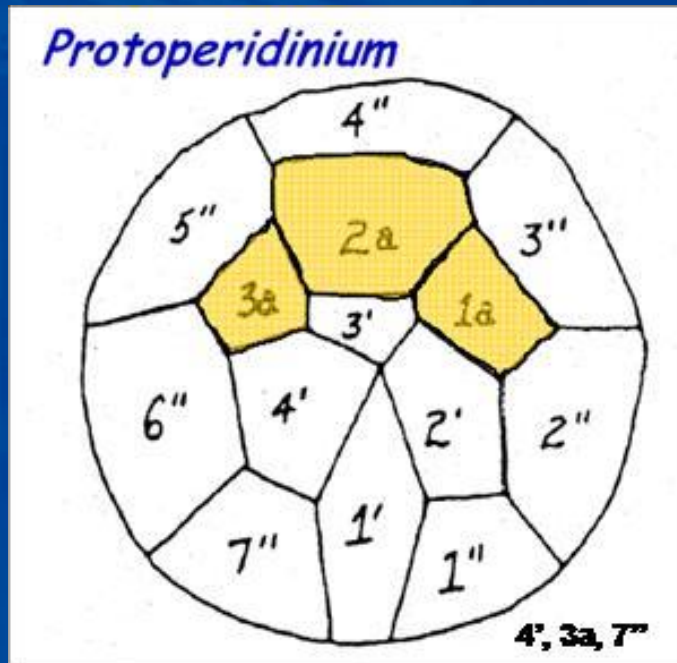


# Peridinales vs. Gonyaulacales



Principales diferencias entre las placas de peridinioides y gonyaulacoides  
(Adaptado de Larsen, 2008)

# Peridinales vs. Gonyaulacales

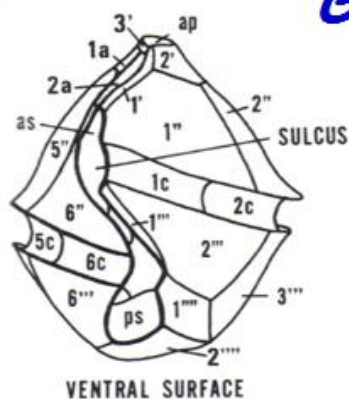


Tabulación apical de peridinales (*Protoperidinium*) y gonyaulacales (*Alexandrium*)  
(Adaptado de Larsen, 2008)

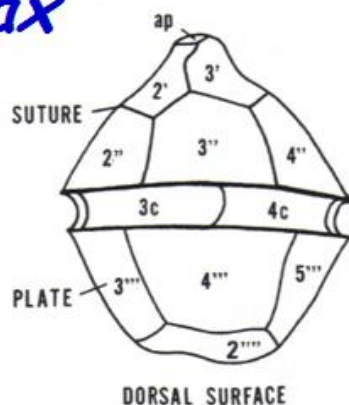
# Gonyaulacales

## (*Gonyaulax* y *Alexandrium*)

### *Gonyaulax*



ANTERIOR  
↑  
↓  
POSTERIOR



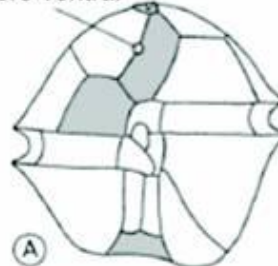
**Fórmula 3', 2a, 6''**



### *Alexandrium*

Complejo del poro apical (APC)

Poro ventral



Placa del poro (Po)

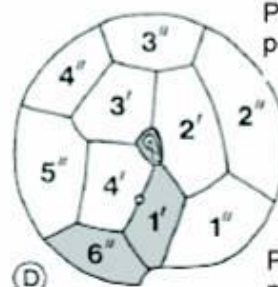
**Fórmula 4', 6''**

Poro de unión anterior

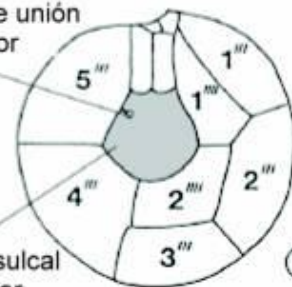


Poro apical (coma)

Poro de unión posterior



Placa sulcal posterior



Diferencias de tabulación entre *Gonyaulax* y *Alexandrium*

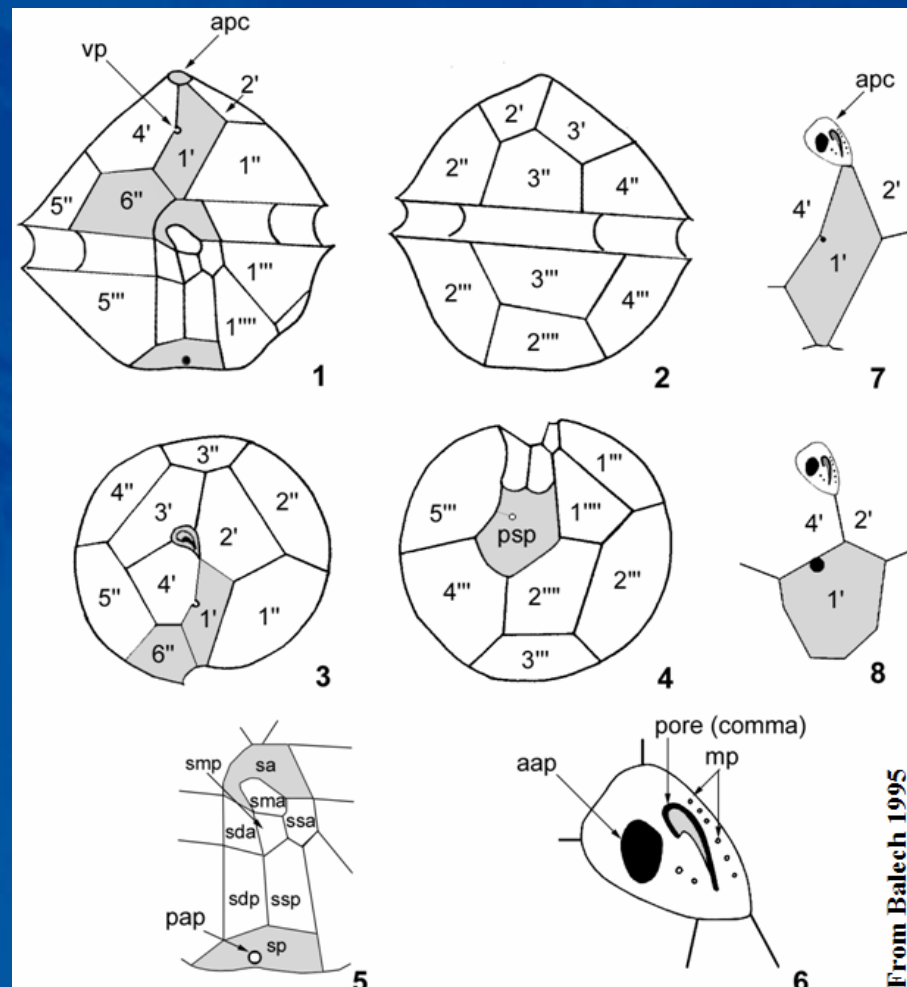
(Adaptado de Balech, 1995 y Larsen, 2011)



# Gonyaulacales - *Alexandrium*

## Características diagnósticas

- tamaño y forma
- 1' y 6"
- sa y sp
- APC
- poros APC, 1', psp



From Balech 1995

Arreglo de las placas en el género *Alexandrium*

(Adaptado de Balech, 1995 y Larsen, 2011)



# Género *Alexandrium*

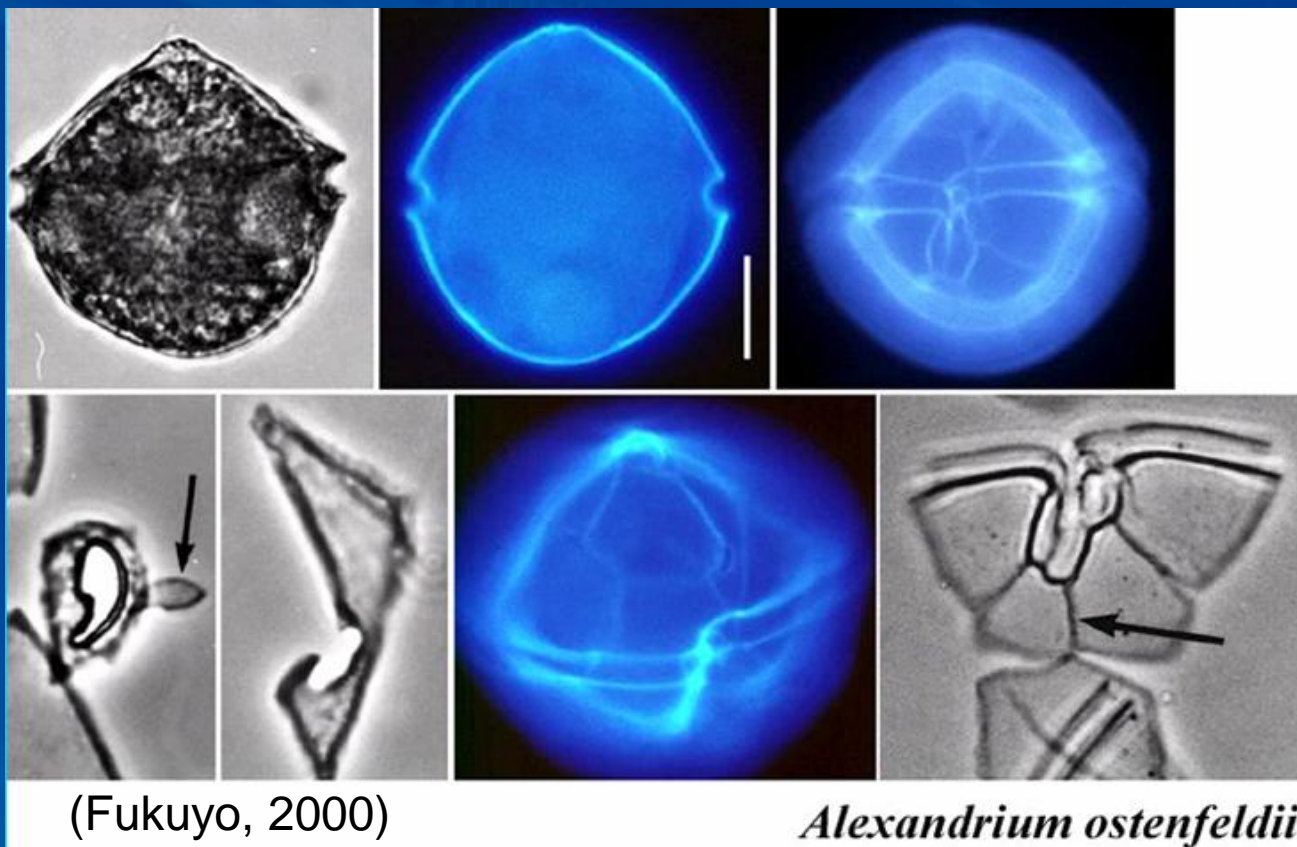
31 especies vigentes (Anderson, 2012)

## Morfo-grupos:

- grupo *minutum*
- grupo *ostenfeldii*
- grupo *catenella*
- grupo *fraterculus*
- grupo *kutnerae*
- grupo *tamarense*
- subgénero *Gessnerium*

# Género *Alexandrium* (grupo *ostenfeldii*)

1' angosta con poro ventral de gran tamaño, 2 sinónimos?  
Especies: *A. ostenfeldii*, *A. peruvianum*

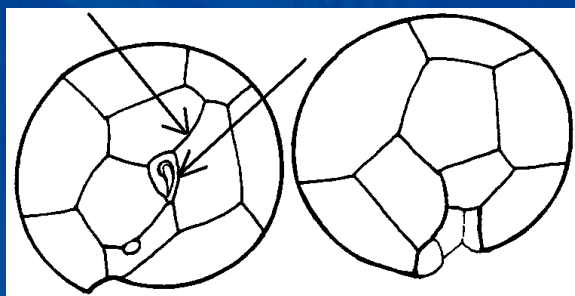
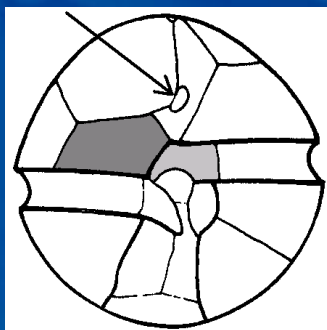


(<http://dinos.anesc.u-tokyo.ac.jp/Jpeg/Alexandrium/fra-tam-ost.-comp.jpg>)

# Género *Alexandrium* (grupo *ostenfeldii*)

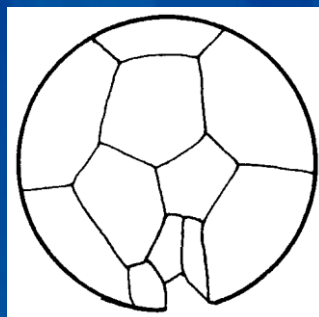
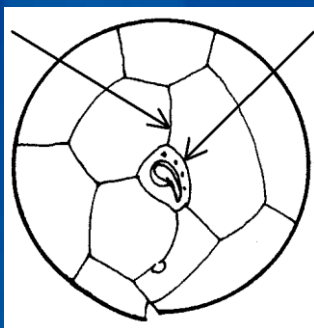
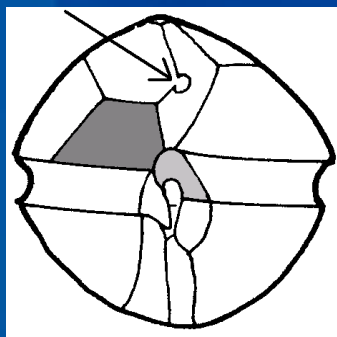
1' angosta con poro ventral de gran tamaño, 2 sinónimos?

Especies: *A. ostenfeldii*, *A. peruvianum*



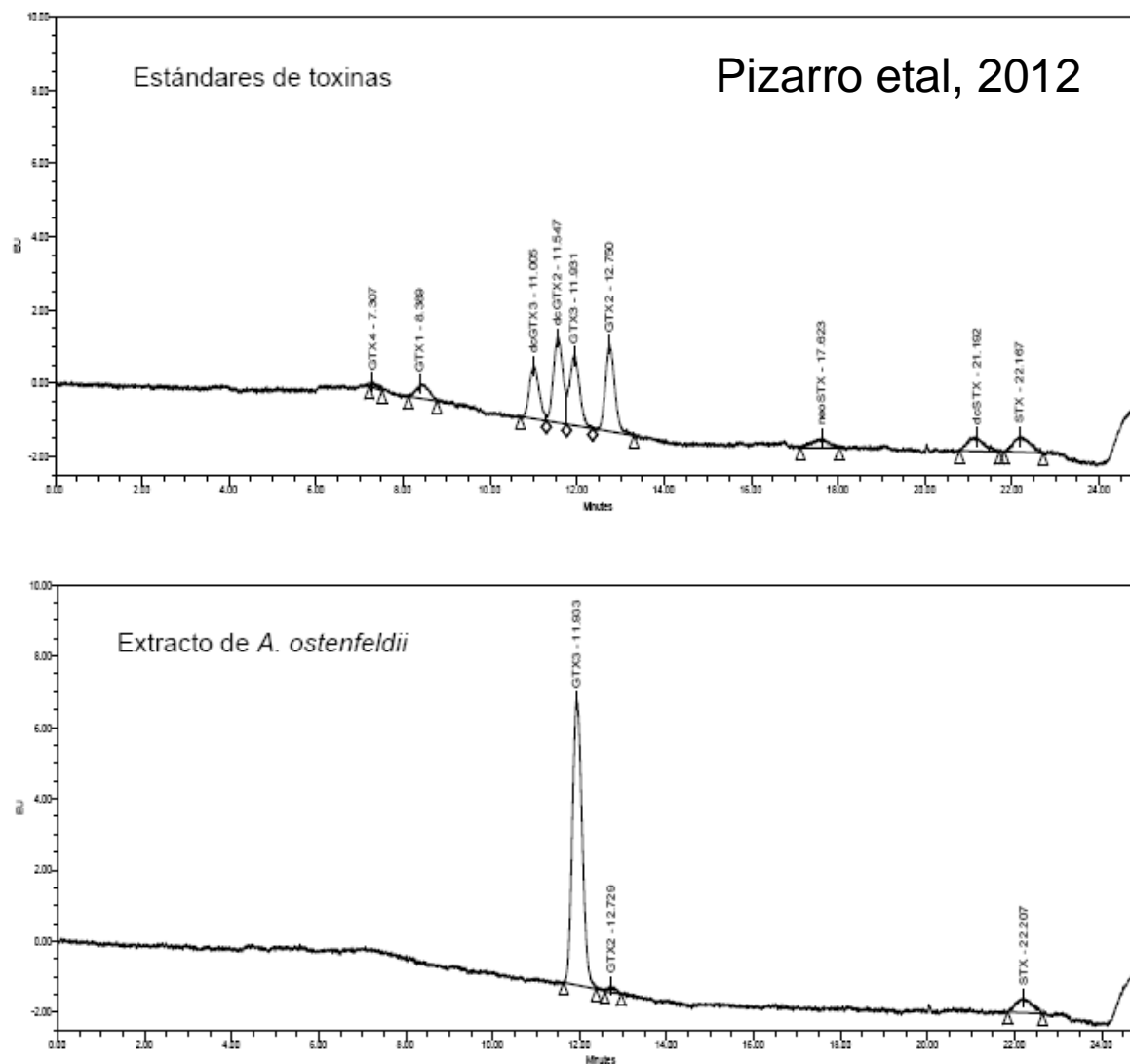
## Características

- forma sa
- sutura 1'
- sutura 2' - 3'
- perfil toxinas



Balech, 1995





**Figura 30.** Cromatogramas de las toxinas paralizantes detectadas en cultivos de *A. ostentfeldii* procedente de I. Vergara (confirmación gentileza de José Franco e Isabel Bravo, investigadores del Instituto de Ciencias Marinas y Español de Oceanografía de Vigo).

# Género *Alexandrium* (grupo *ostenfeldii*)



Distribución de *A. ostenfeldii*  
(Adaptado de Larsen, 2008)

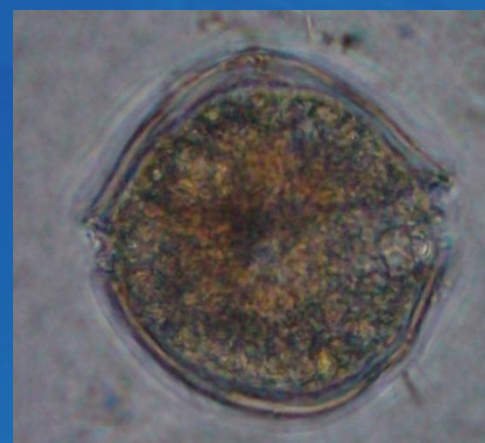
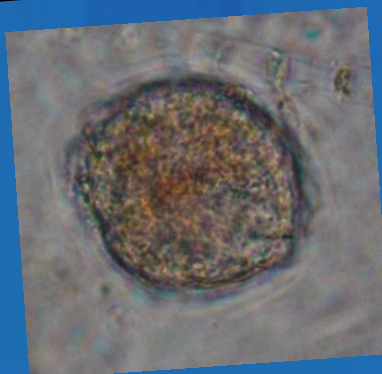
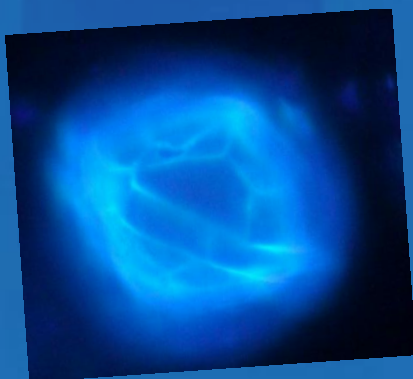
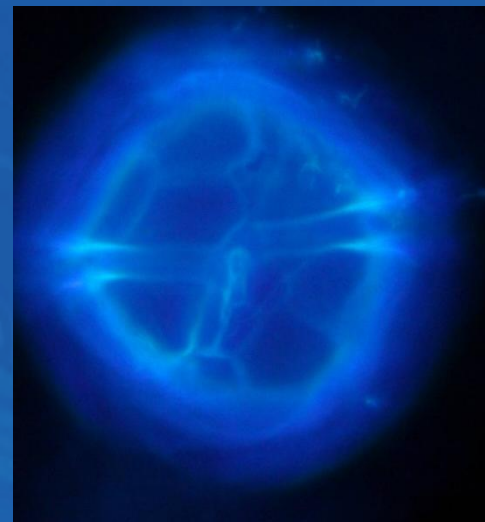
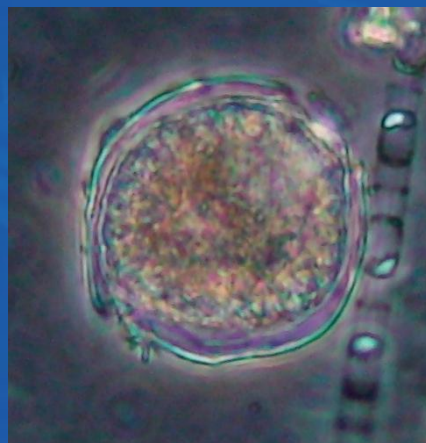
# Género *Alexandrium* (grupo *ostenfeldii*)



Distribución de *A. peruvianum*  
(Adaptado de Fraga, 2007)



# Género *Alexandrium* (grupo *ostenfeldii*)

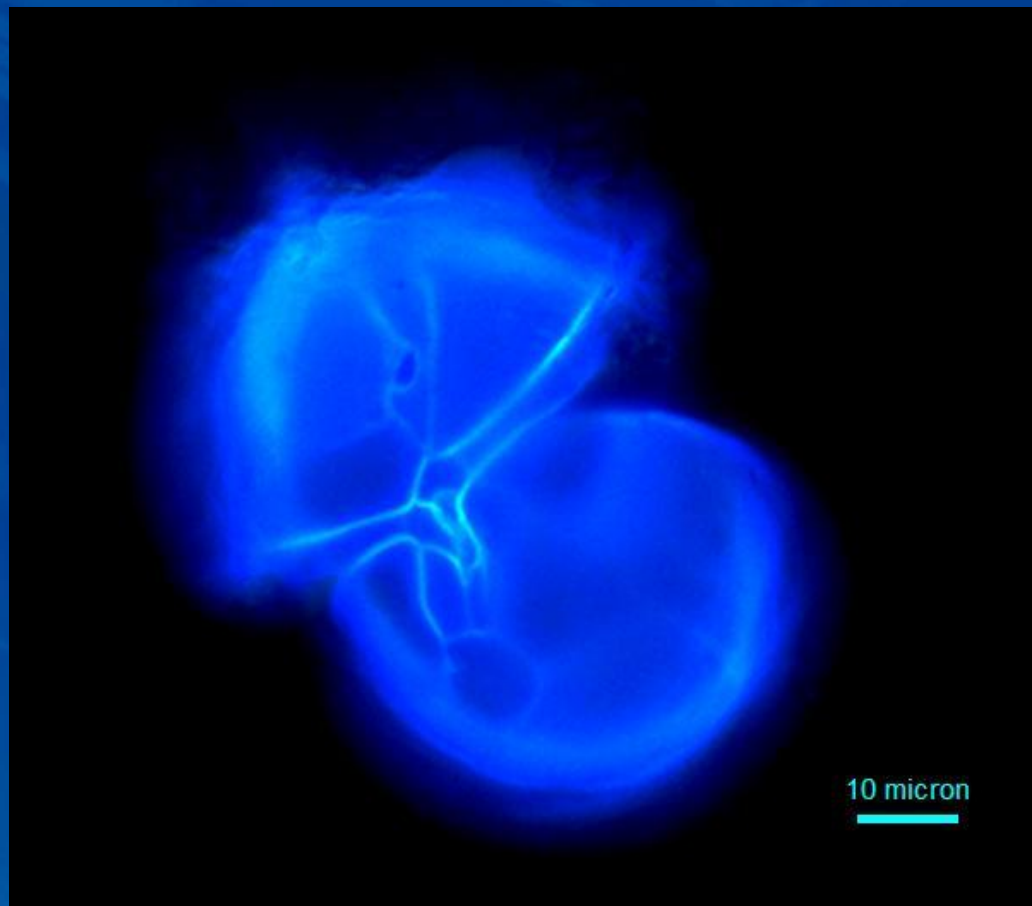


*Alexandrium*  
*ostenfeldii*





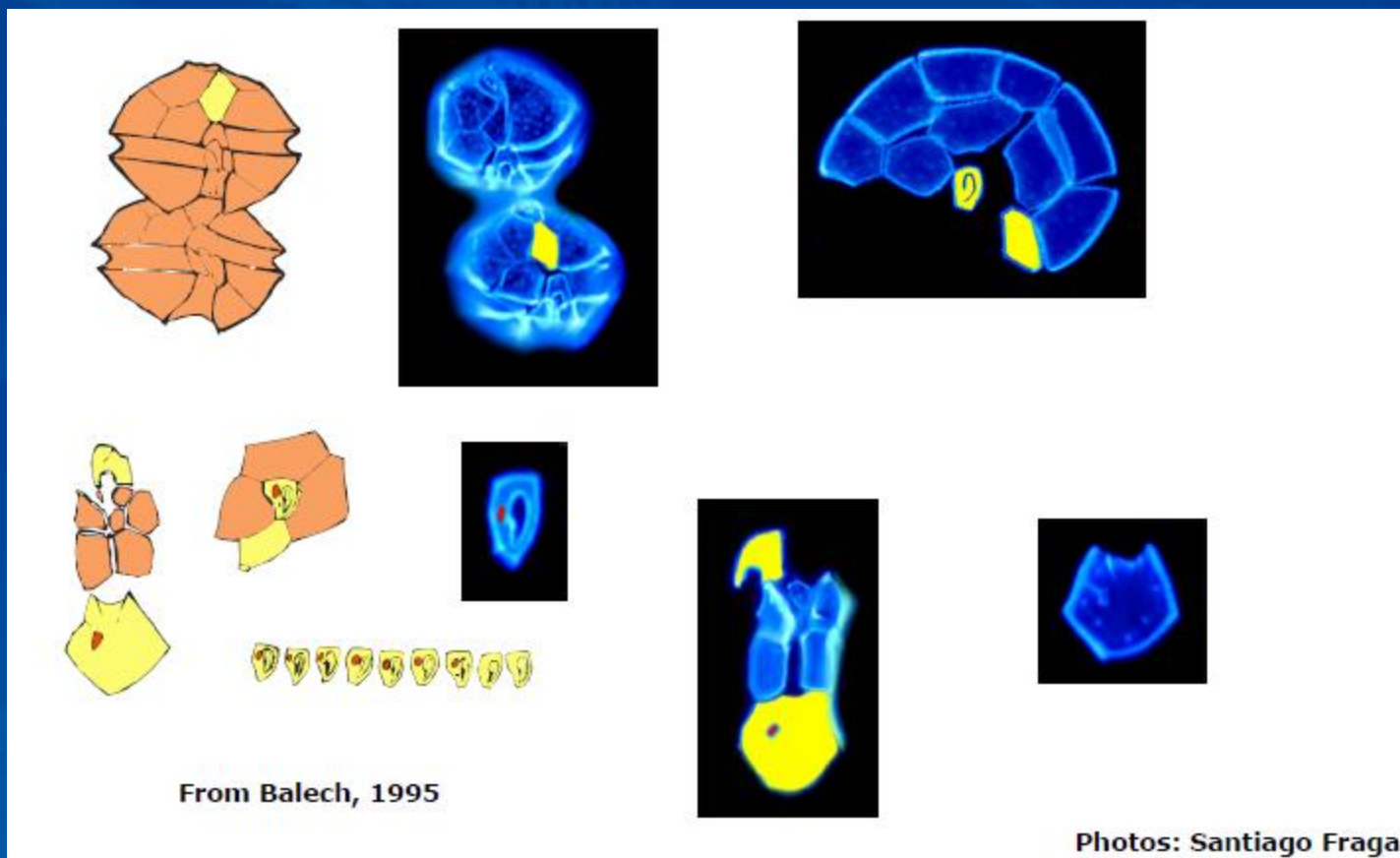
# Género *Alexandrium* (grupo *ostenfeldii*)



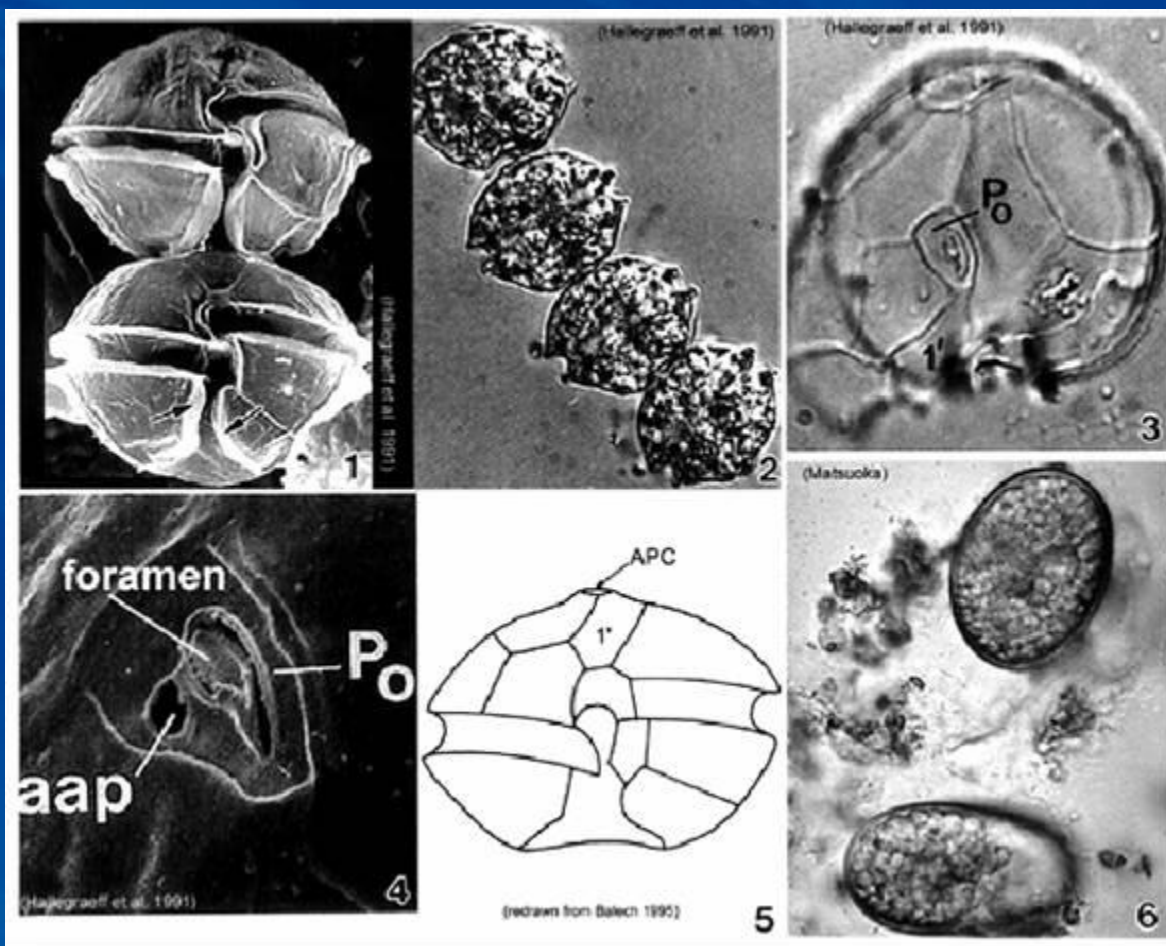
Detección de *A.ostenfeldii* desde año 2009 – inicio uso de epifluorescencia

# Género *Alexandrium* (grupo *catenella*)

Células comprimidas antero-posteriormente, formadoras de cadenas, poro ventral ausente. Especies: *A. catenella*, *A. compressum*



# Género *Alexandrium* (grupo *catenella*)

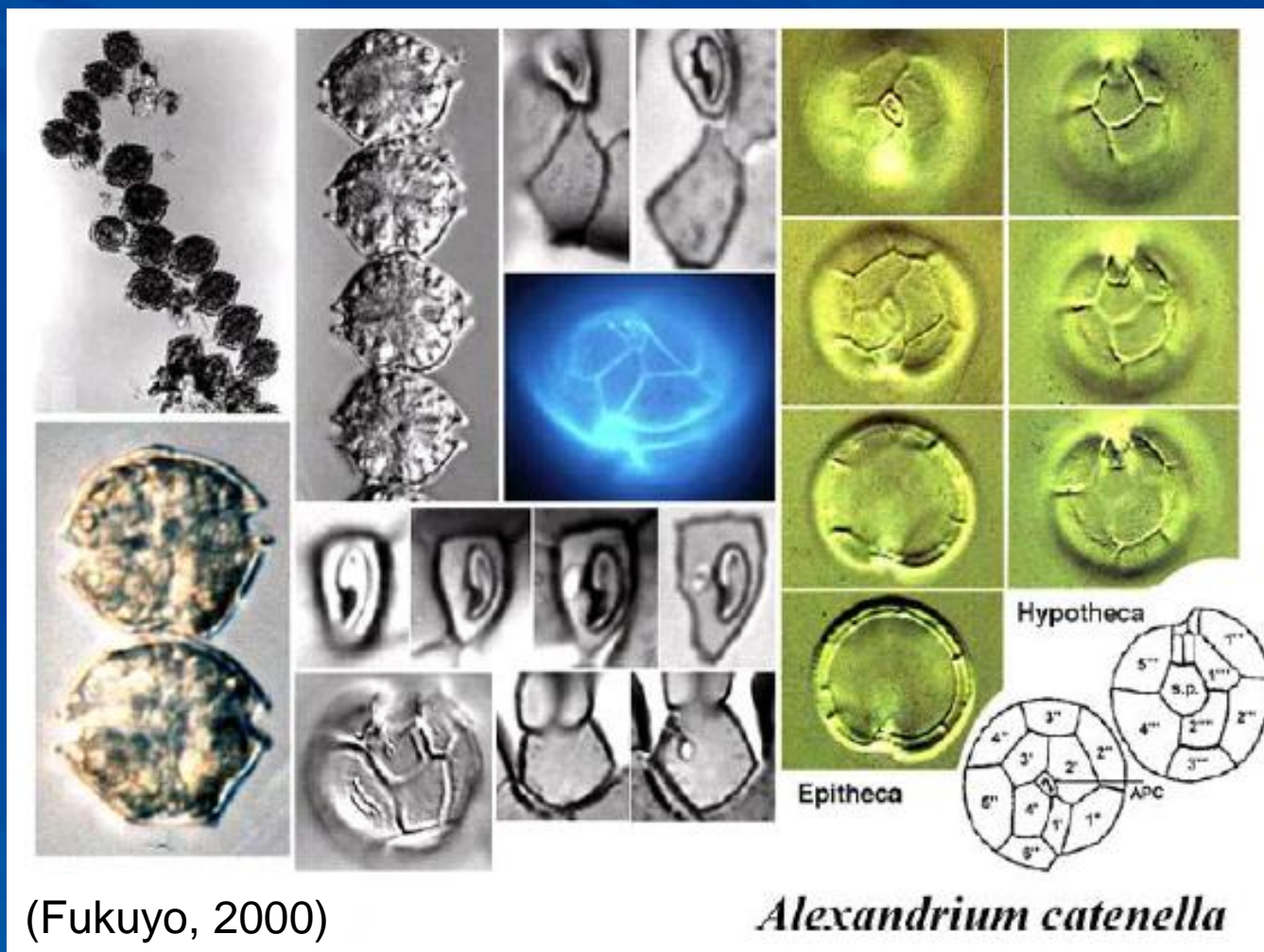


(Faust y Gulege, 2002)

<http://www.nmnh.si.edu/botany/projects/dinoflag/Taxa/Acatanella.htm>



# Género *Alexandrium* (grupo *catenella*)



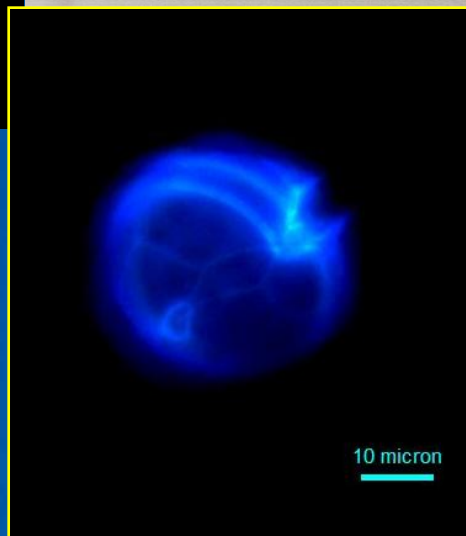
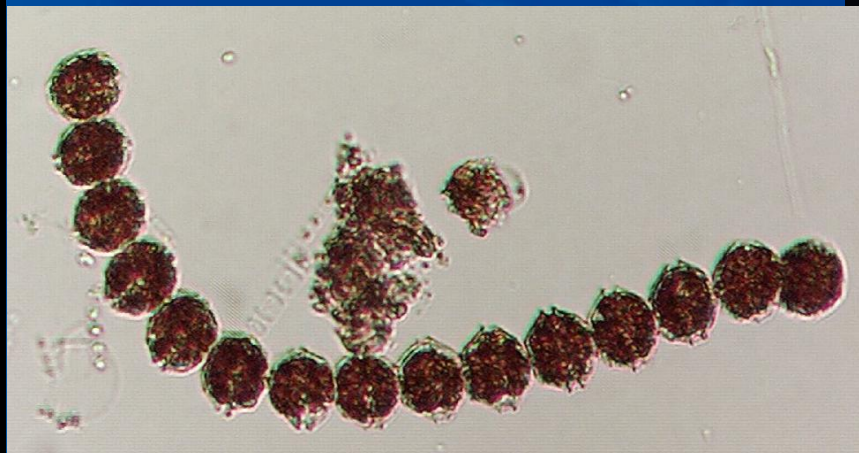
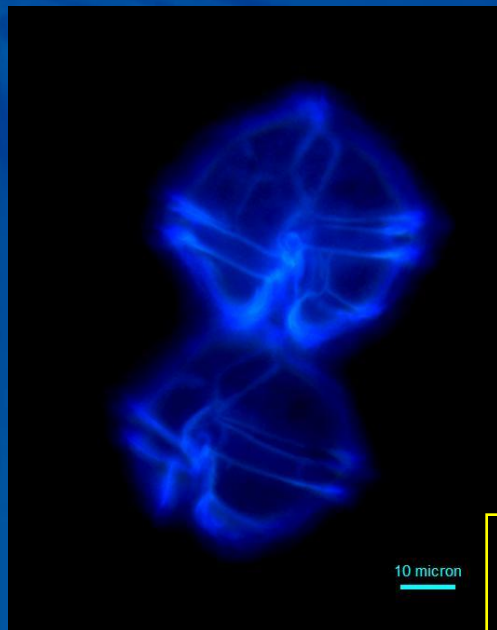


# Género *Alexandrium* (grupo *catenella*)



Distribución de *A. catenella*  
(Adaptado de Fraga, 2007)

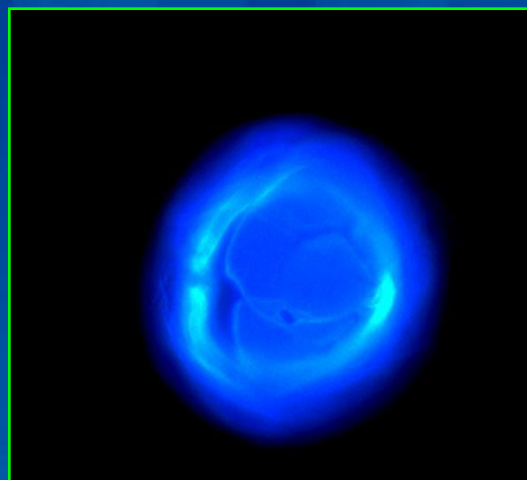
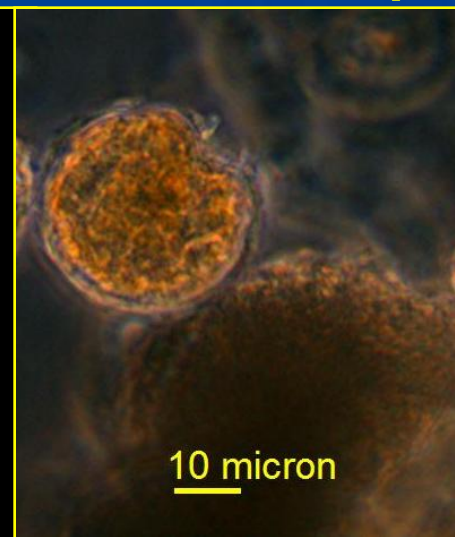
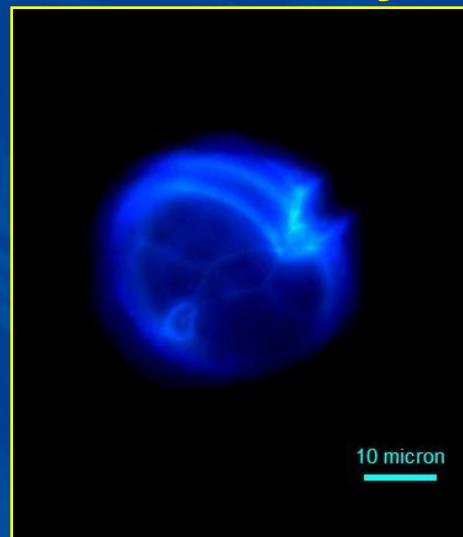
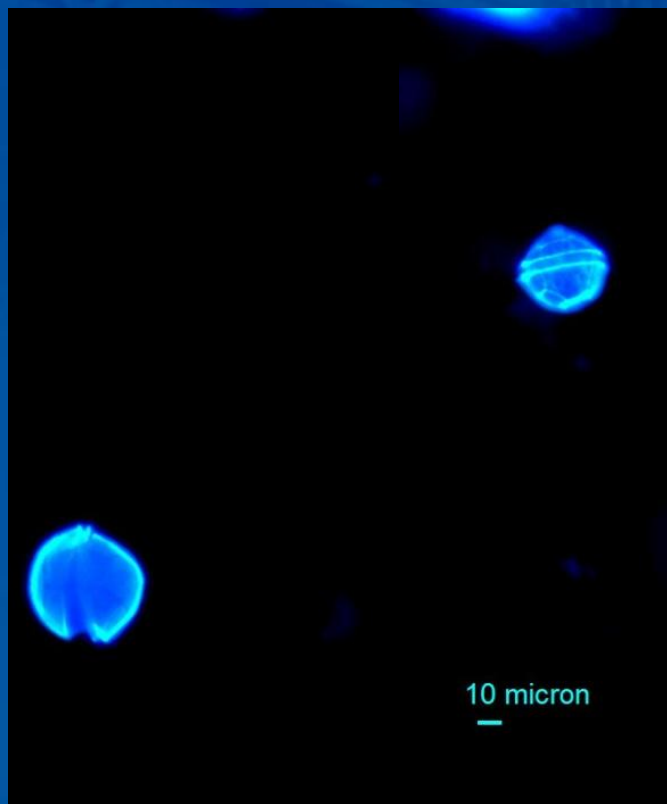
# Género *Alexandrium* (grupo *catenella*)





# Género *Alexandrium*

(comparación *A. ostenfeldii* y *A. catenella*)

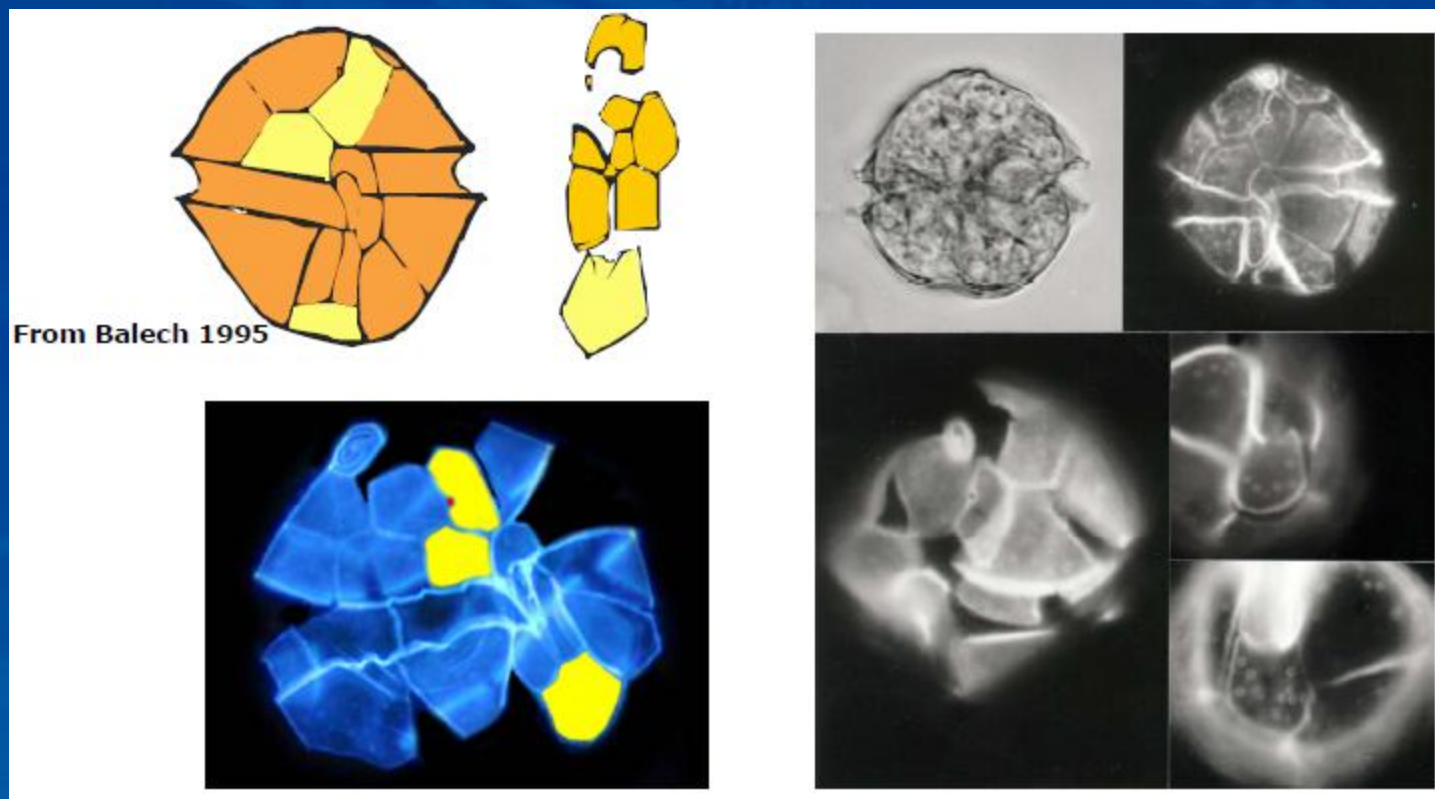




# Género *Alexandrium* (grupo *tamarense*)

Difícil de definir morfológicamente, única característica en común podría ser la forma de la placa sp. Con o sin poro ventral.

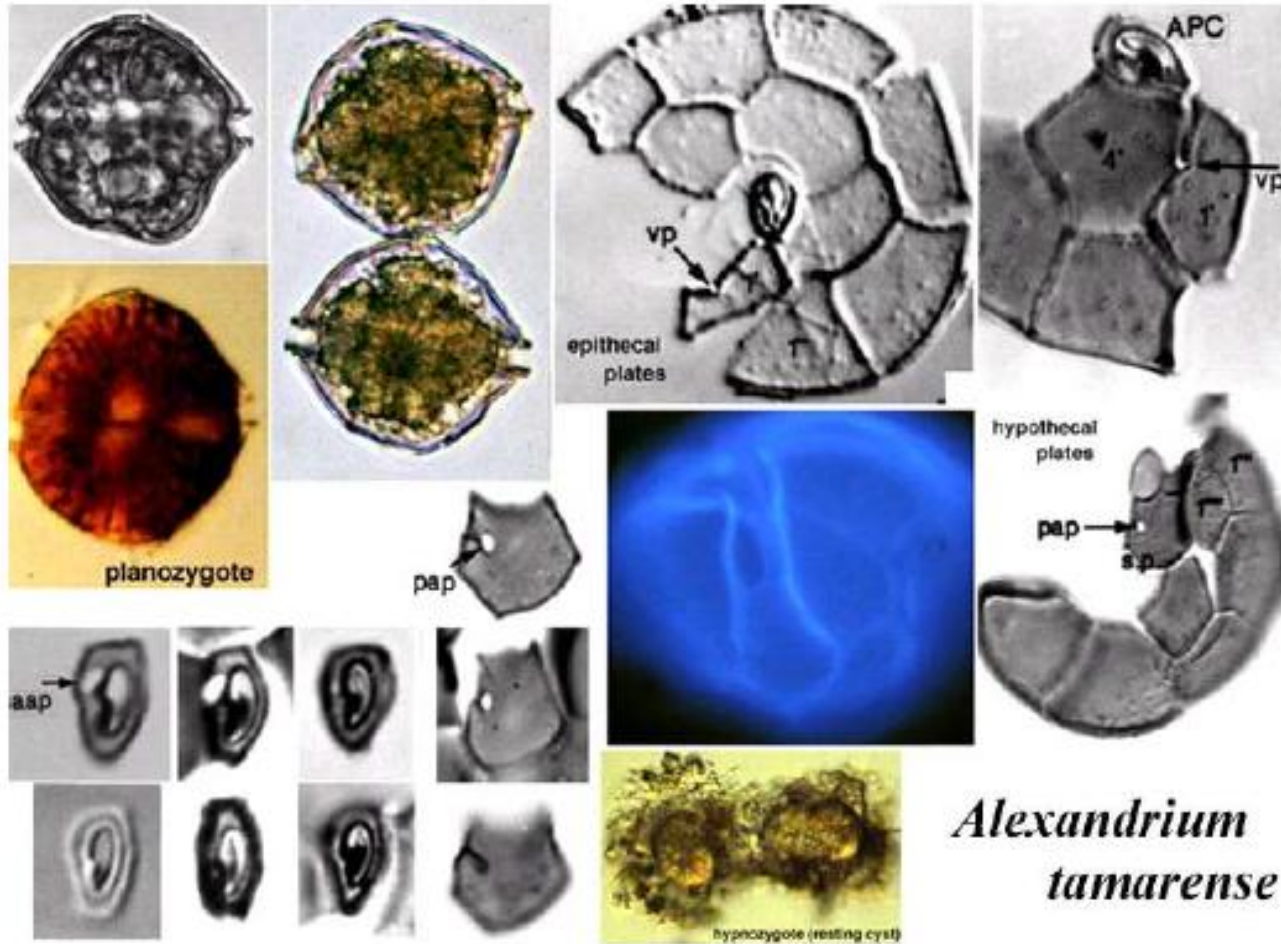
Especies: *A. tamarense*, *A. acatenella*, *A. fundyense*, *A. tropicale*



(Adaptado de Fraga, 2007)

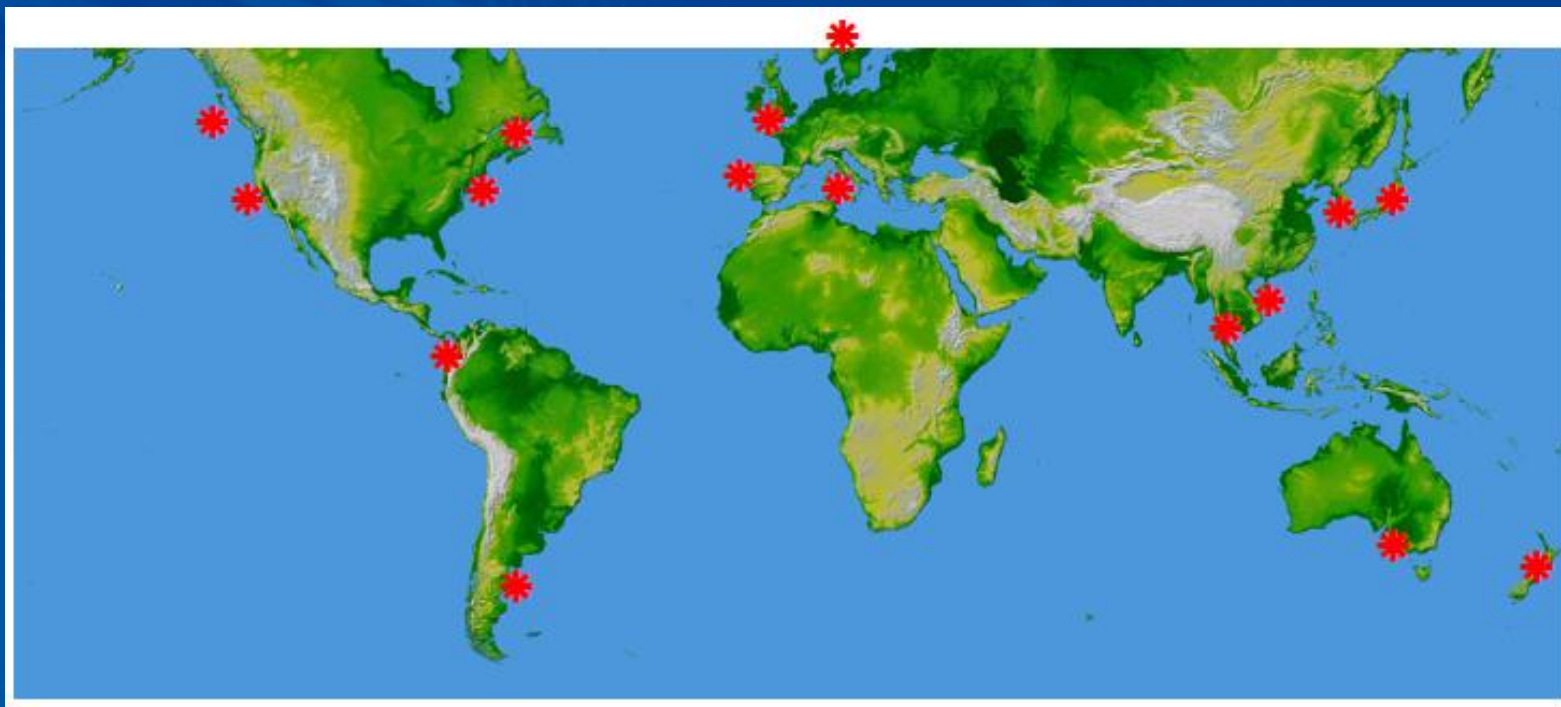


# Género *Alexandrium* (grupo *tamarense*)



(Fukuyo, 2000)

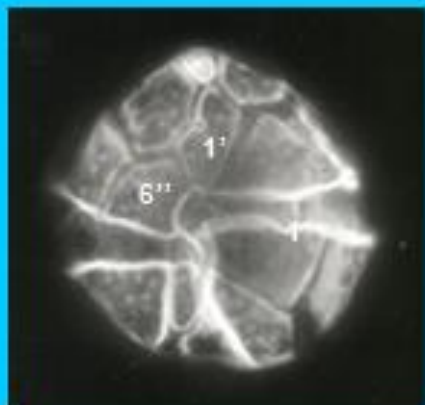
# Género *Alexandrium* (grupo *tamarense*)



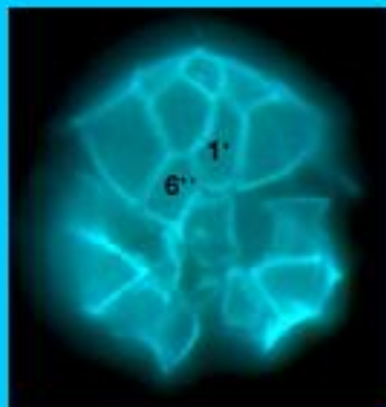
Distribución de *A. tamarense*  
(Adaptado de Fraga, 2007)

Cepas tóxicas y no-tóxicas

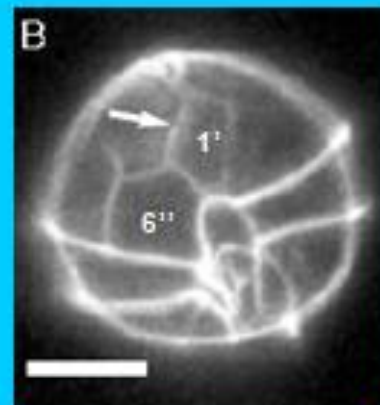
# Grupo *tamarense* ~ *minutum*



*A. tamarense*



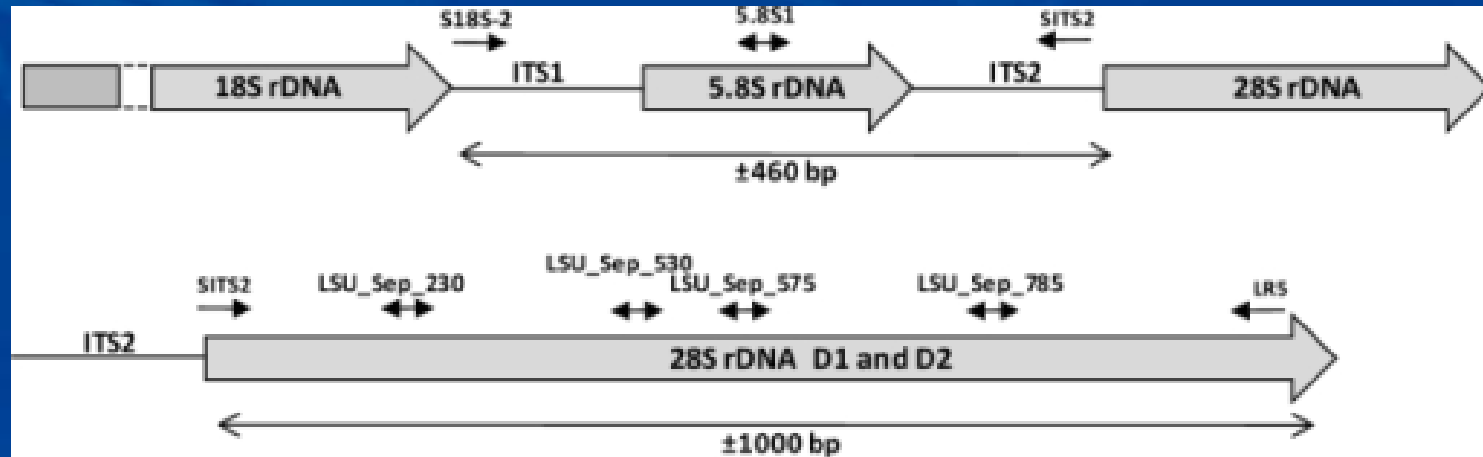
*A. minutum*



*A. tamutum*

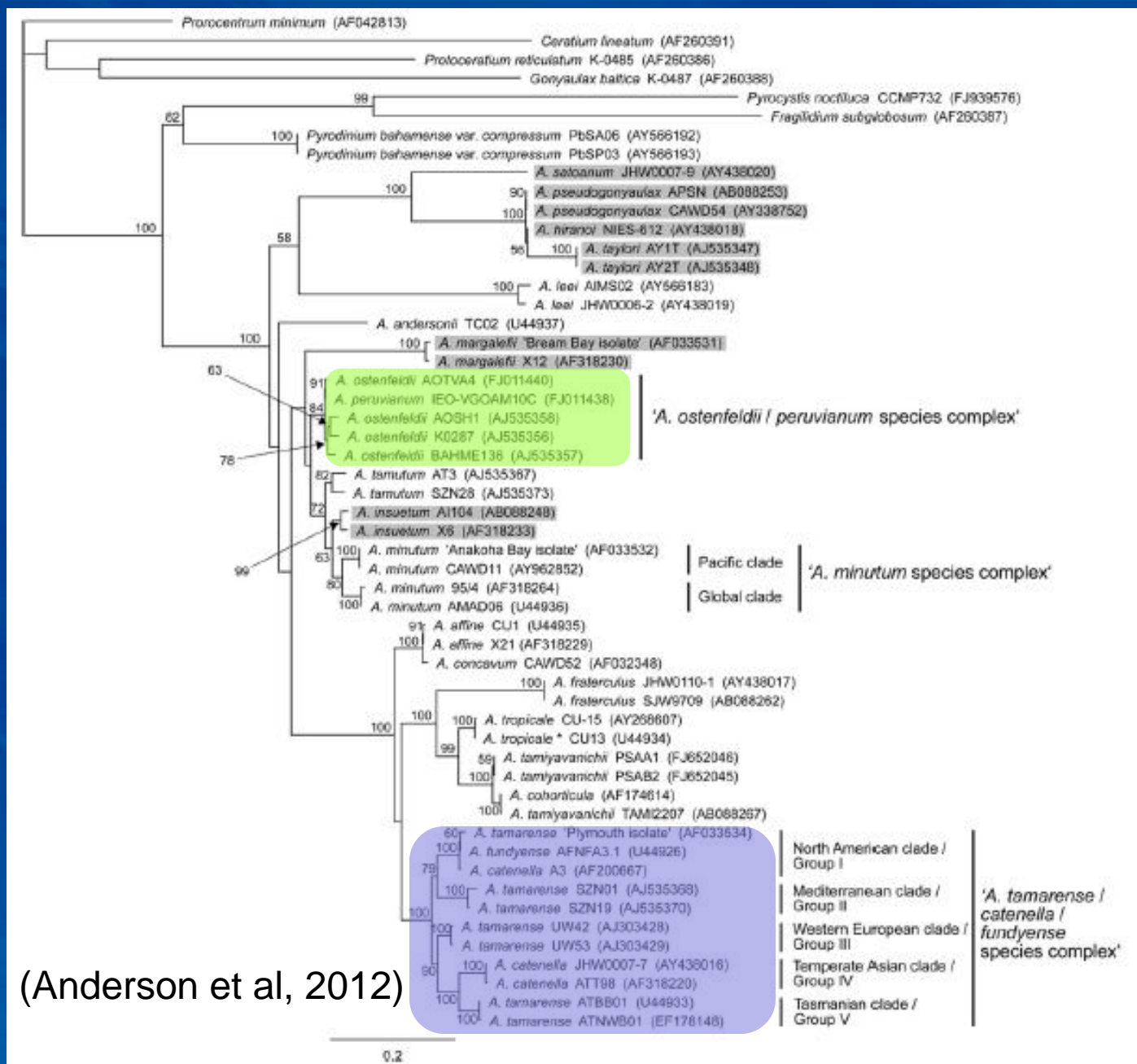
(Adaptado de Larsen, 2011)

(Quaedvlieg et al, 2011)



Región D1/D2 de LSU rDNA usada para revelar relaciones evolutivas, estudios de identificación y biogeográficos, detección y cuantificación.





(Anderson et al, 2012)

# Variabilidad intraespecífica

## *A. tamarensis*

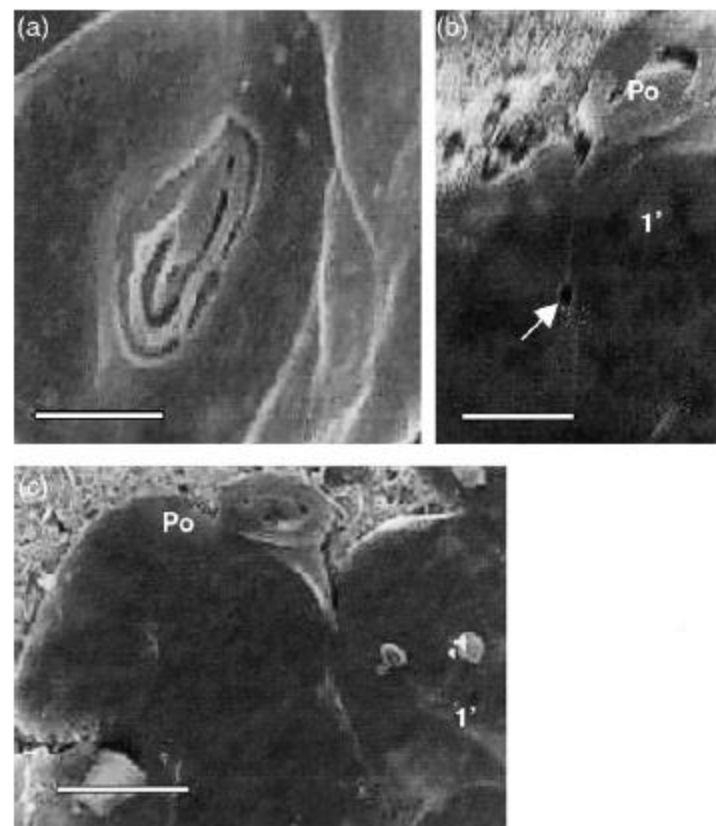


Fig. 2. Morphology of *A. tamarensis* from Golfo Nuevo. S.E.M., clone AT-3D: (a) detail of the apical pore scale bar = 2 μm; (b) plate I<sub>B</sub> with ventral pore (arrow); (c) plate I<sub>B</sub> without ventral pore scale bars = 1 μm.

Table 1

Percentage of *A. tamarensis* cells with a ventral pore (% v.p.) in a field sample from Golfo Nuevo and in clones AT-3D and AT-2D cultured under different conditions

Samples	Temperature (°)	Irradiance (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	% v.p.	n
Field sample	14		63	130
AT-3D clone	10	200	12	42
	10	80	40	20
	15	35	48	50
	20	80	42	100
	20	35	100	50
	20	200	50	50
AT-2D clone	10	35	72	100
	15	35	45	20

Características morfológicas

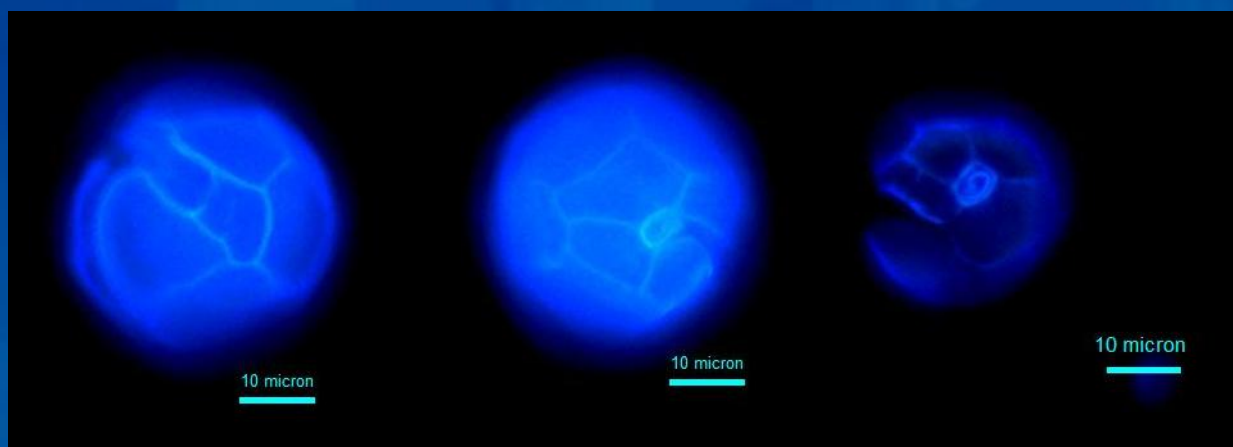
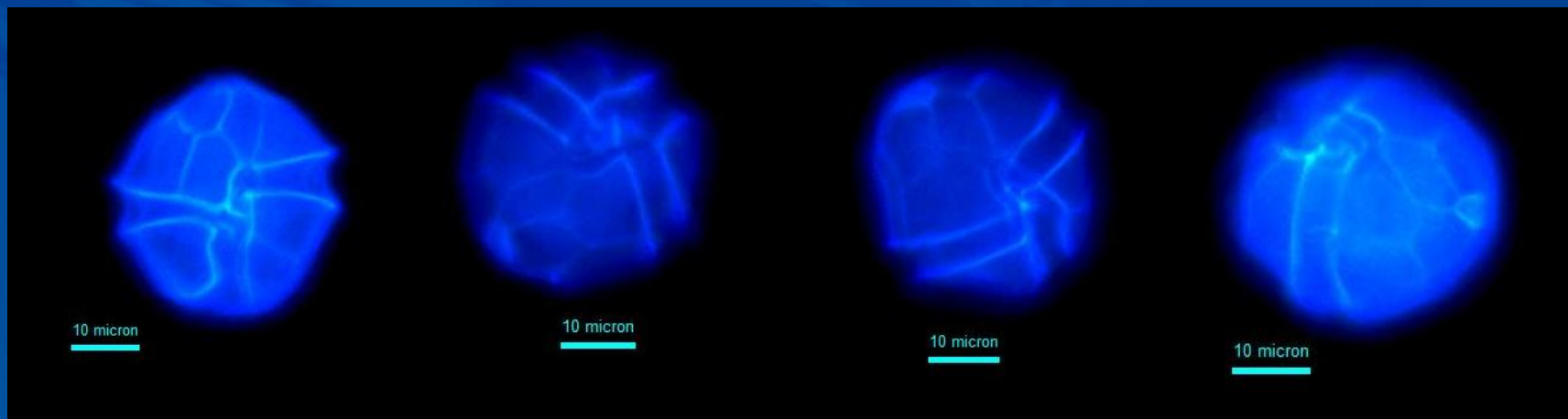
Condiciones ambientales

(Gayoso y Fulco, 2006)

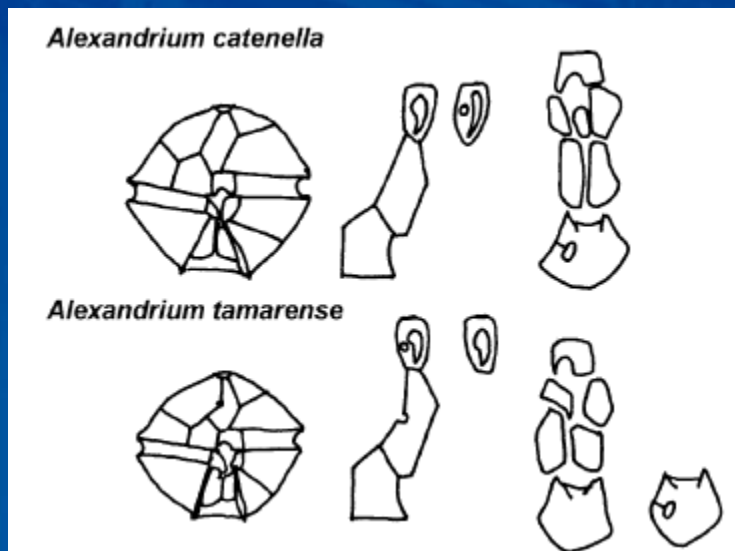


# Variabilidad intraespecífica

## *A. tamarense* – cultivo Vigo



# Relación tamarense - catenella



(MacKenzie et al, 2004)

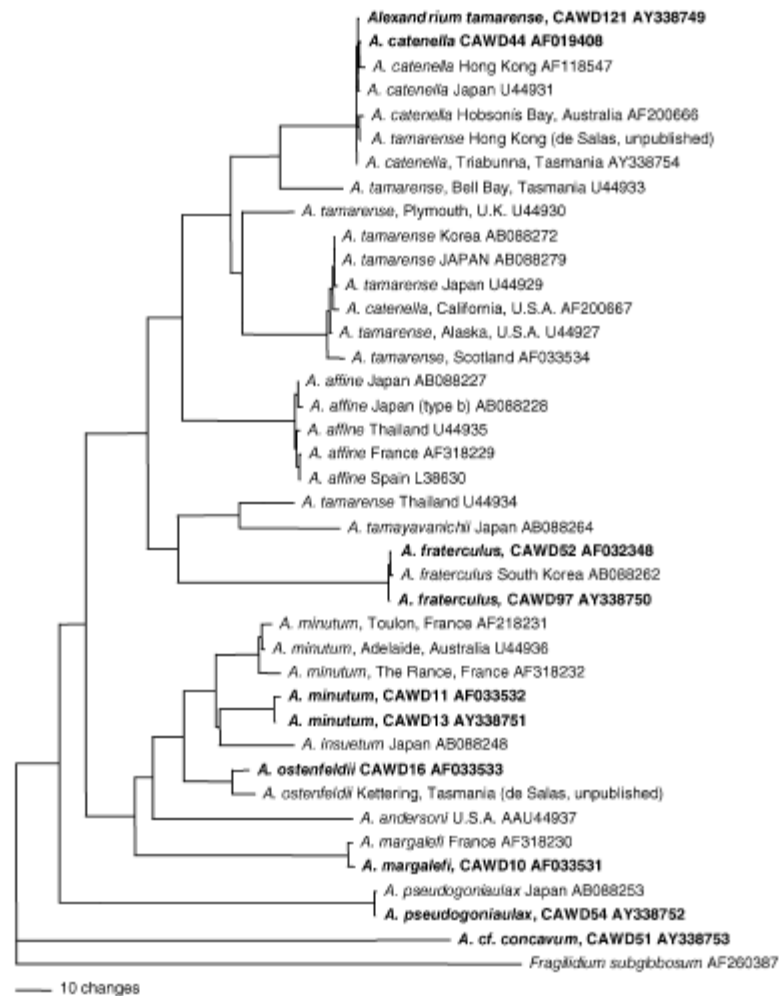
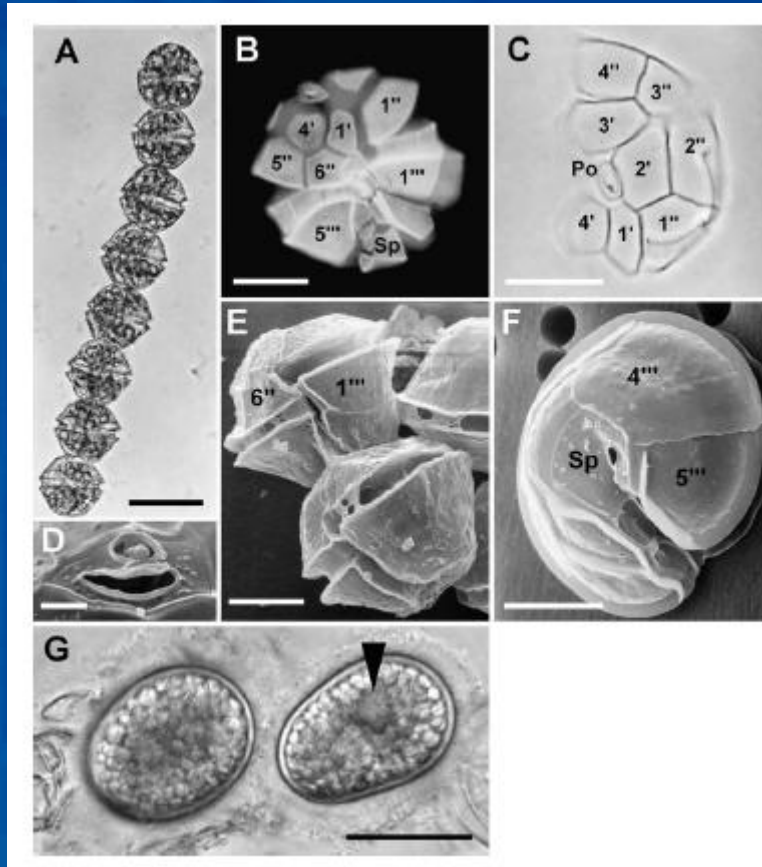


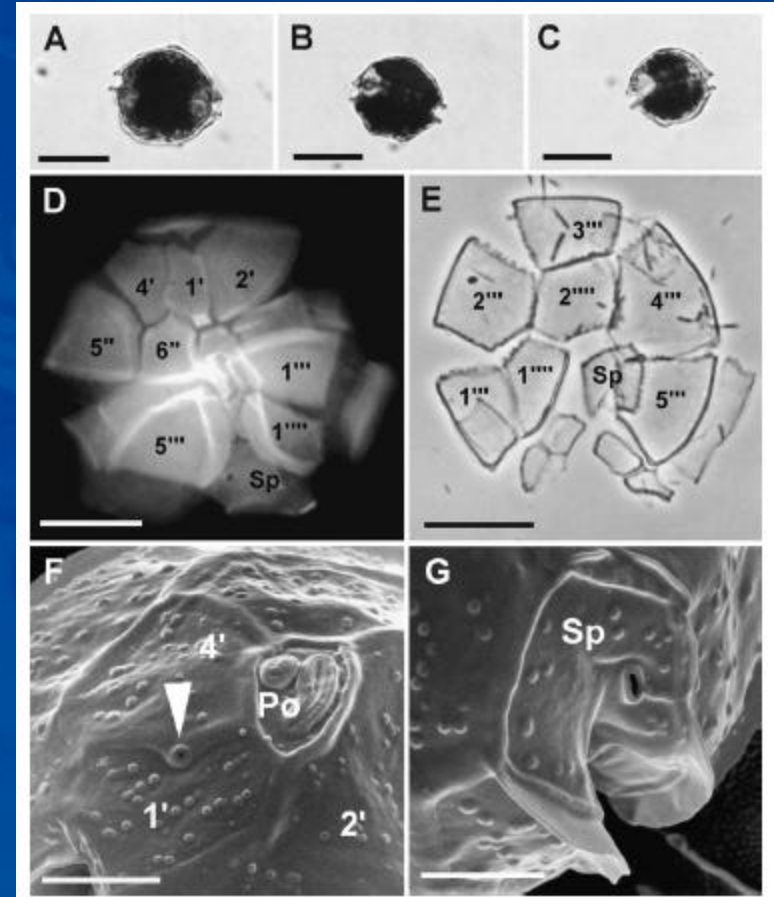
Fig. 13. Phylogenetic relationships, based on aligned D1-D2 LSU rDNA sequences, among *Alexandrium* species isolates from New Zealand and elsewhere. The neighbour joining tree was constructed using maximum parsimony as the search criterion. Distances are absolute, and names in bold were sequenced for this study. Accession numbers for GenBank sequences and the Cawthron culture collection designation are provided after the name.



# Relación tamarense - catenella



*A. catenella*



*A. tamarense*

(MacKenzie et al, 2004)

# Relación tamarense - catenella

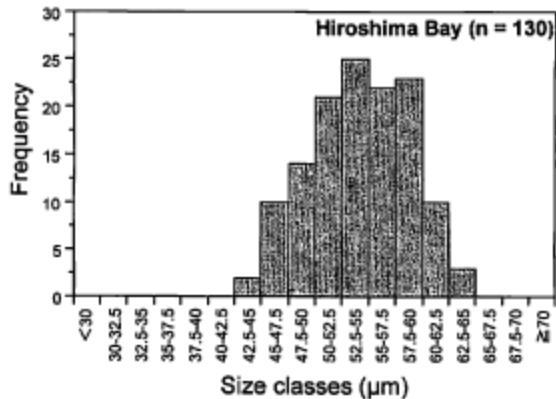
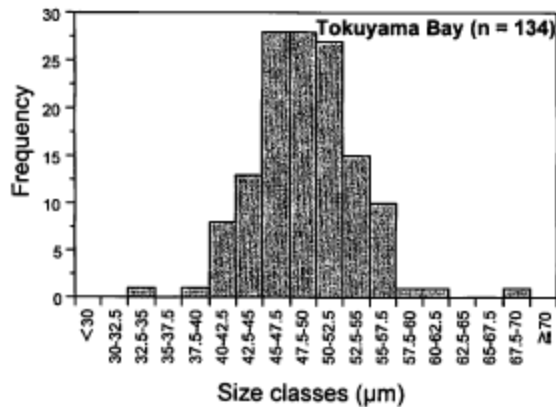


Fig. 2. Cyst length-frequency distributions of the naturally occurring *Alexandrium* cysts from Tokuyama Bay (upper) and Hiroshima Bay (lower).

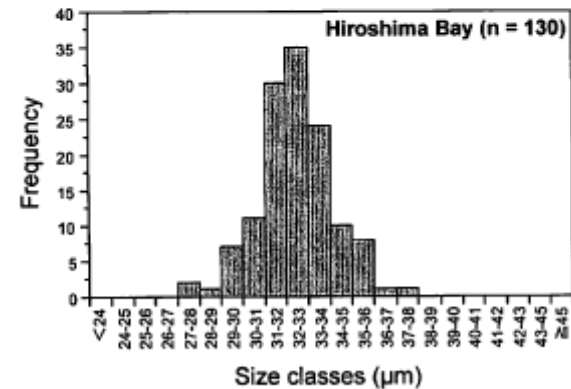
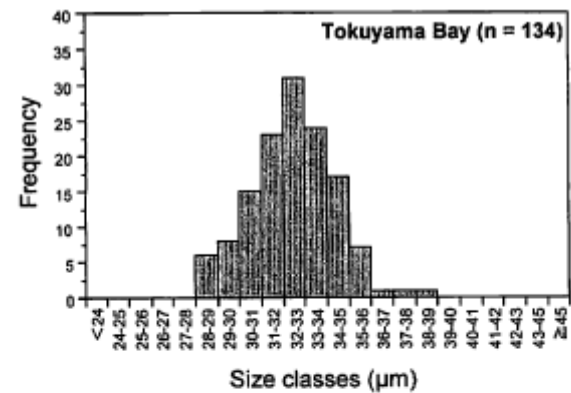


Fig. 3. Cyst width-frequency distributions of the naturally occurring *Alexandrium* cysts from Tokuyama Bay (upper) and Hiroshima Bay (lower).

Diferencias morfología y germinación de cistos

(Itakura y Yamaguchi, 2005)

# Relación tamarense - catenella

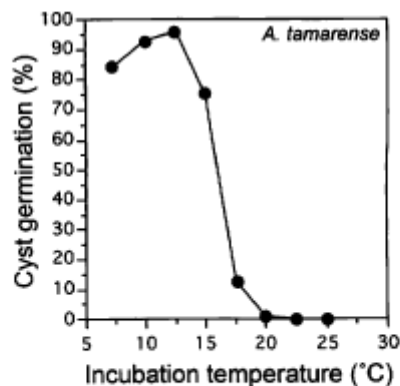
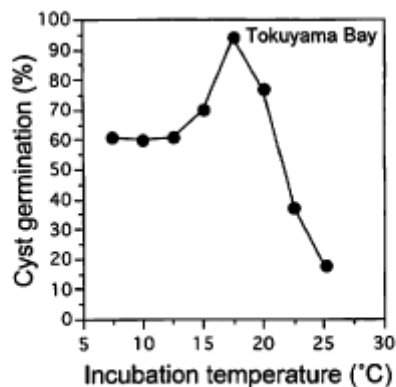


Fig. 4. Relationship between incubation temperature and germination success of naturally occurring *Alexandrium* cysts from Tokuyama Bay (upper) and laboratory produced *A. tamarense* cysts from Hiroshima Bay (lower).

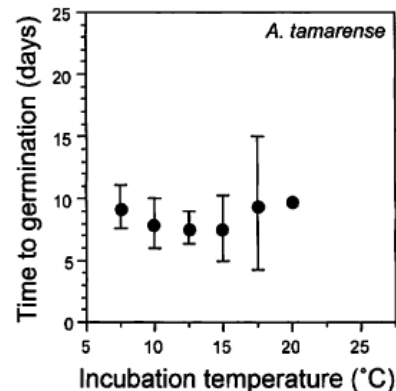
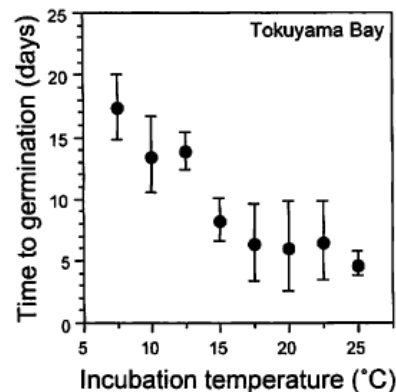


Fig. 5. Relationship between incubation temperature and germination time of naturally occurring *Alexandrium* cysts from Tokuyama Bay (upper) and laboratory produced *A. tamarense* cysts from Hiroshima Bay (lower).

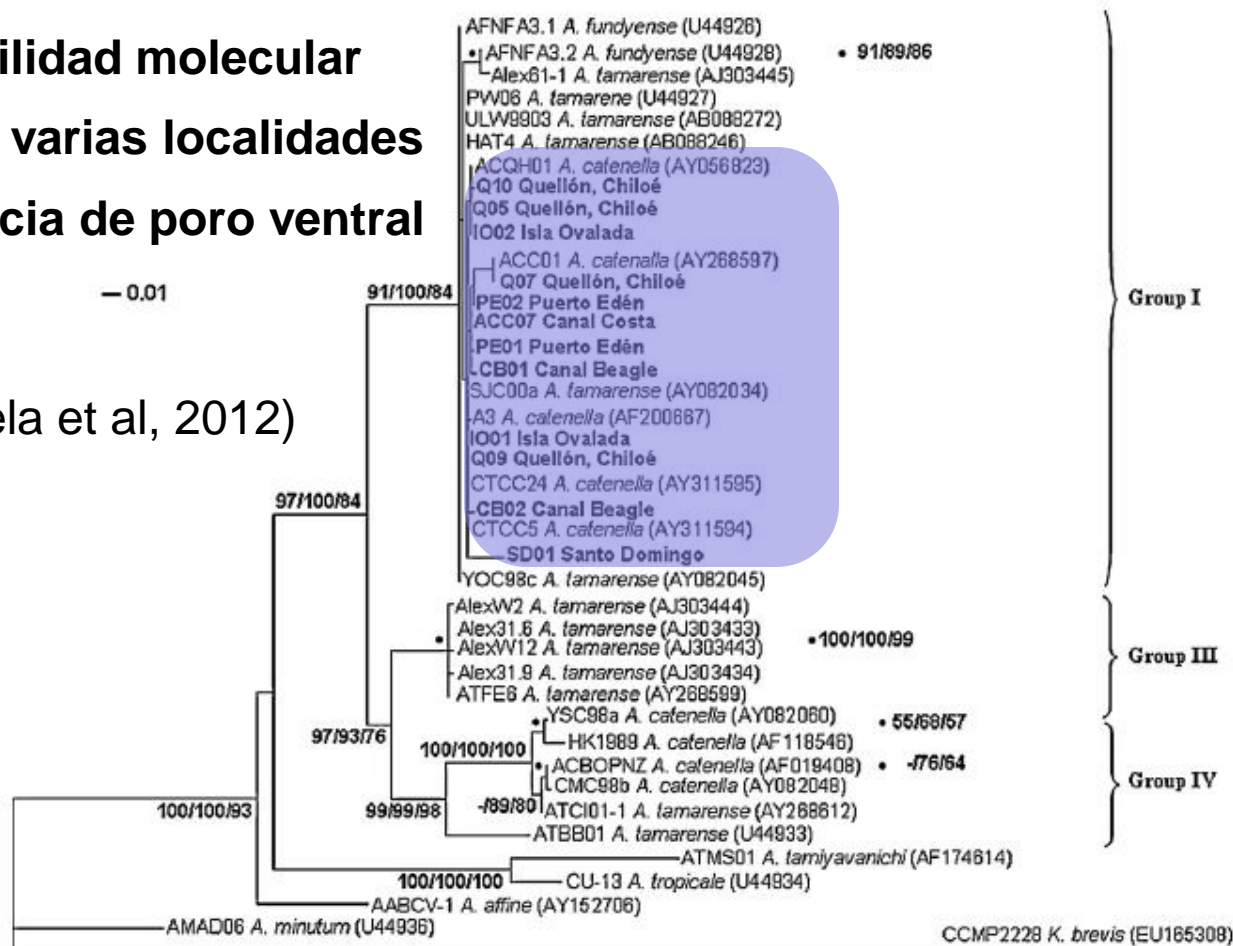
Diferencias morfología y germinación de cistos

(Itakura y Yamaguchi, 2005)

# Variabilidad intraespecífica *A. catenella*

Variabilidad molecular  
Cepas varias localidades  
Ausencia de poro ventral

(Varela et al, 2012)



**Fig. 4.** Maximum likelihood phylogenetic tree derived from partial LSU rDNA (D1–D3) sequences of different *Alexandrium* species/strains closely related to the Chilean *A. catenella* isolates. Bootstrap support values for three phylogenetic approaches (NJ/MP/ML) are shown adjacent to the corresponding node. Dash (–) indicates bootstrap support less than 50%.







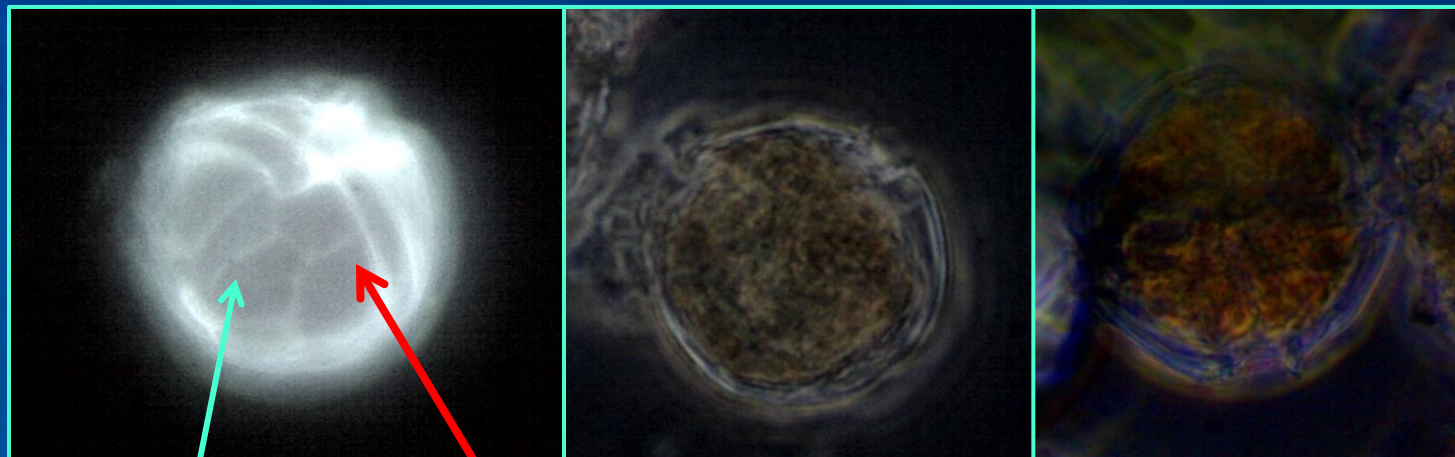
“Morphological and genetic examination of strains obtained from different geographical locations, including the type locality of the different morpho-species, is required to formally re-define several species.”

(Anderson et al, 2012)



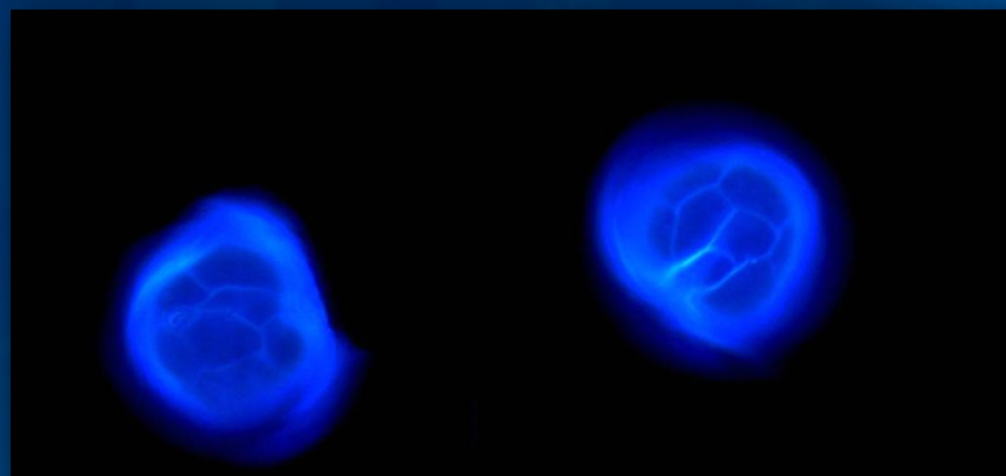
# *Alexandrium cf. tamarense*

Detección en región de Los Lagos



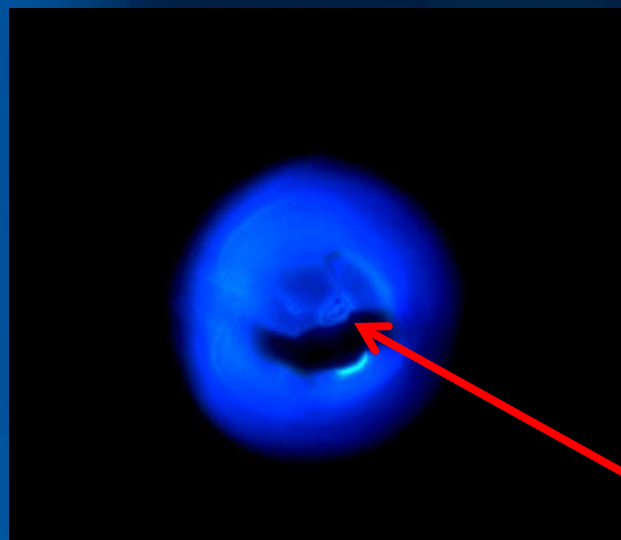
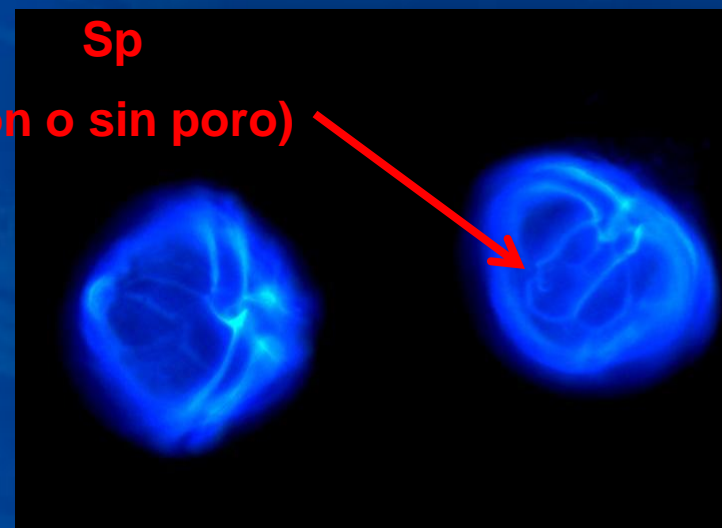
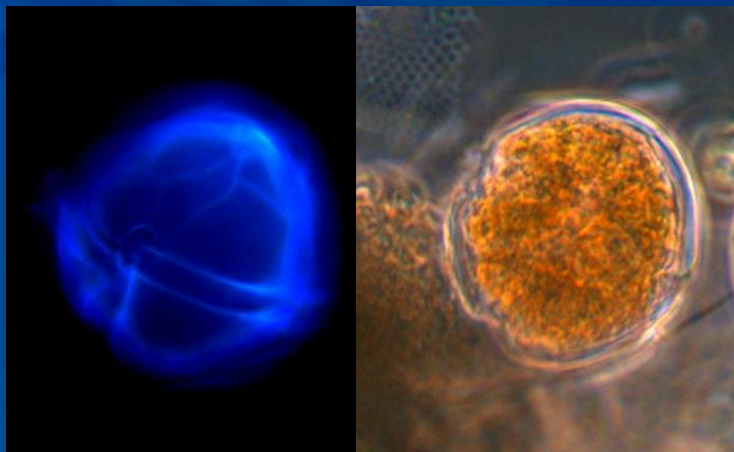
Poro ventral

6"



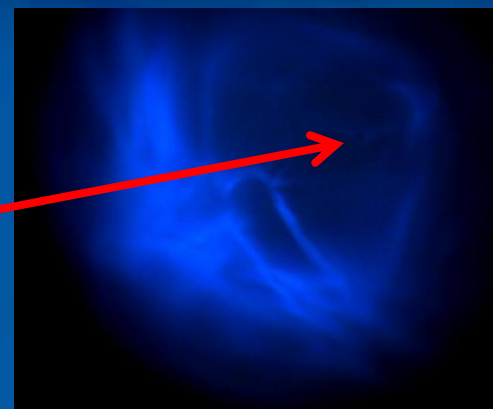
# *Alexandrium cf. tamarense*

Detección en región de Los Lagos



APC

Poro ventral  
placa 1'

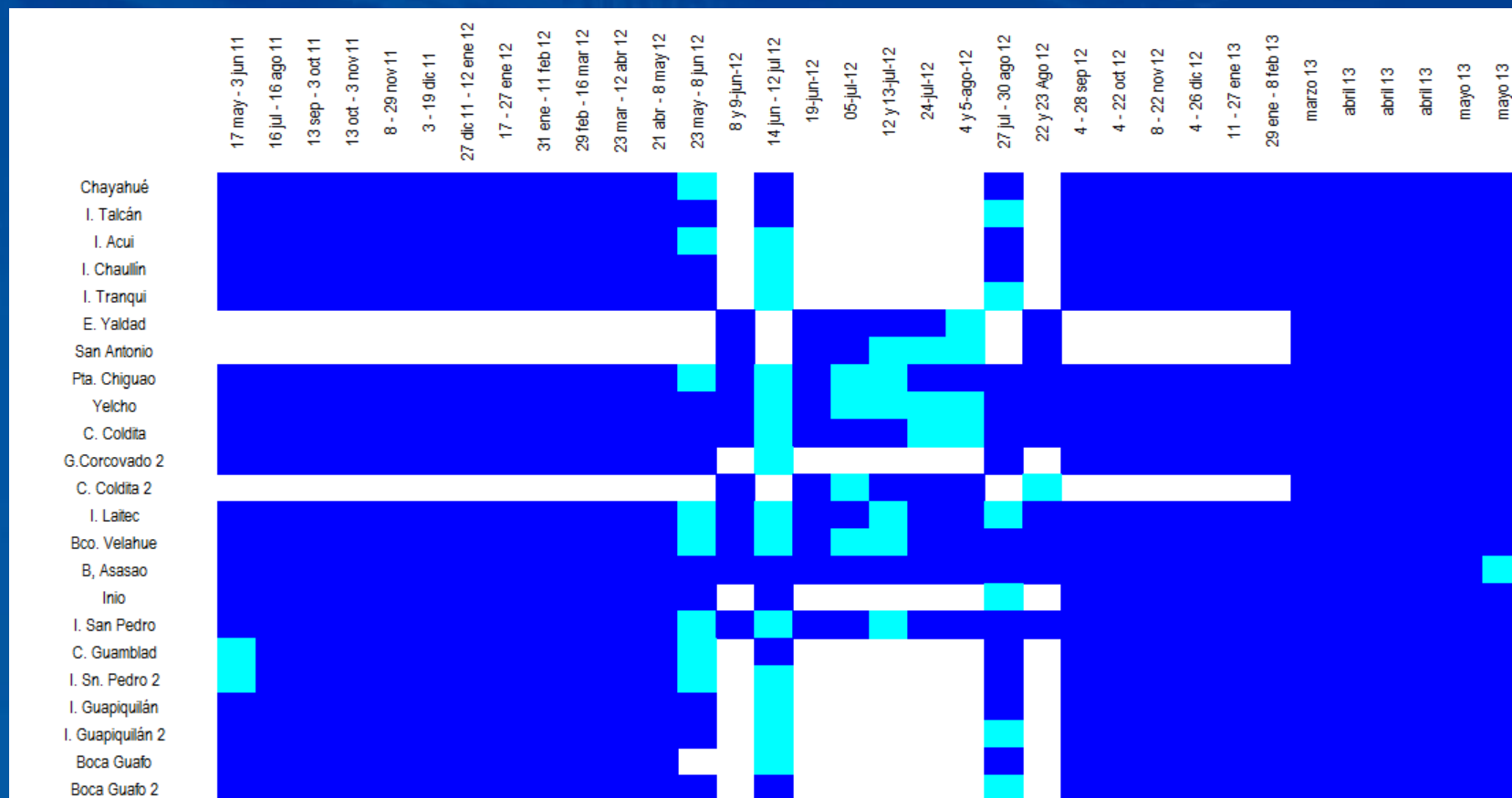
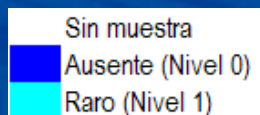






# Alexandrium cf. tamarense

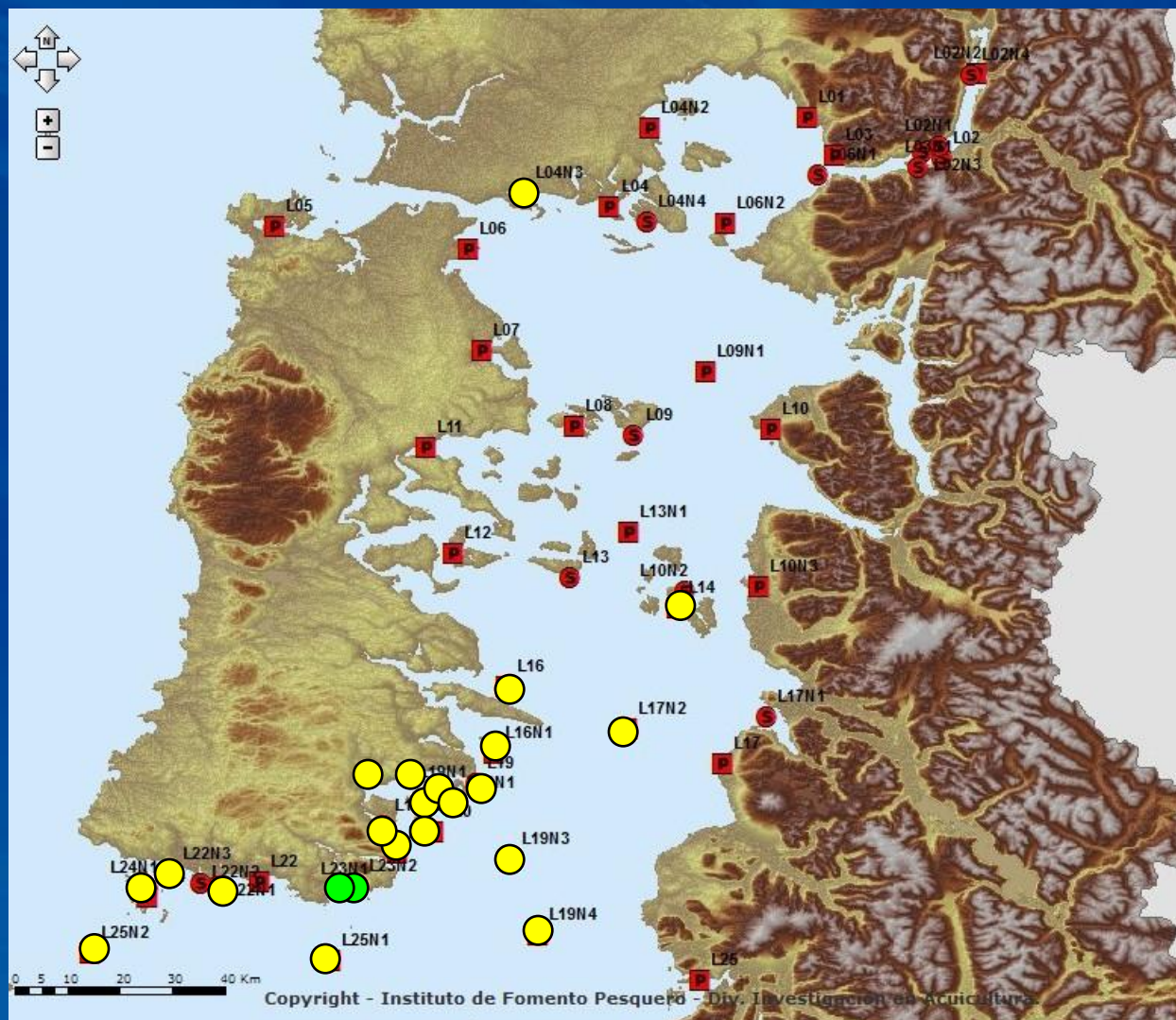
## Detección en región de Los Lagos





# *Alexandrium cf. tamarense*

## Detección en región de Los Lagos





# **Género *Alexandrium***

## **Metodologías de análisis y detección**

Uso de microscopía de epifluorescencia

- Tinción Calcofluor o Fluorescent Brightener
- Filtro DAPI
- Uso recomendado para identificación de dinoflagelados tecados
- Mayor costo que microscopios convencionales
- Equipos adquiridos por Ifop y en uso desde 2009 (región de Los Lagos)

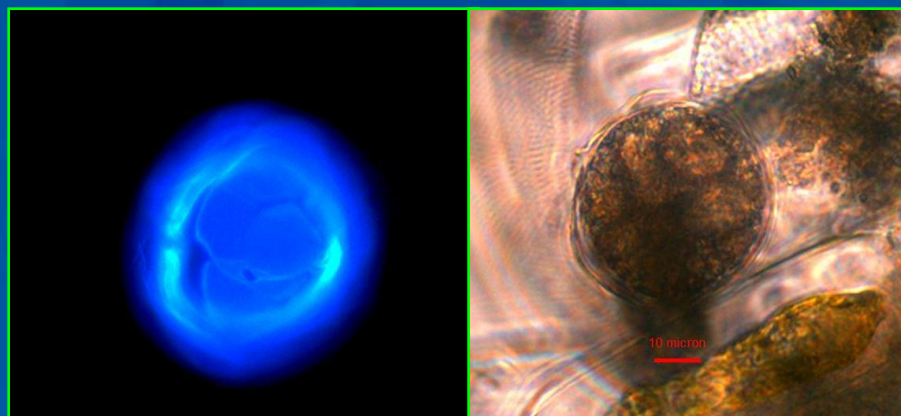
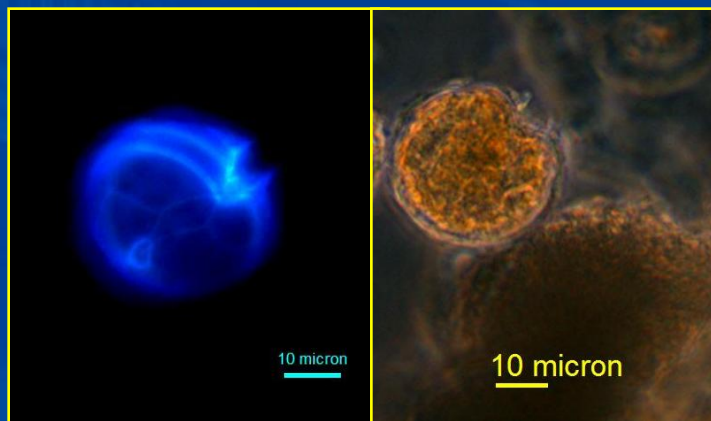




# Género *Alexandrium*

## Metodologías de análisis y detección

### Uso de microscopía de epifluorescencia

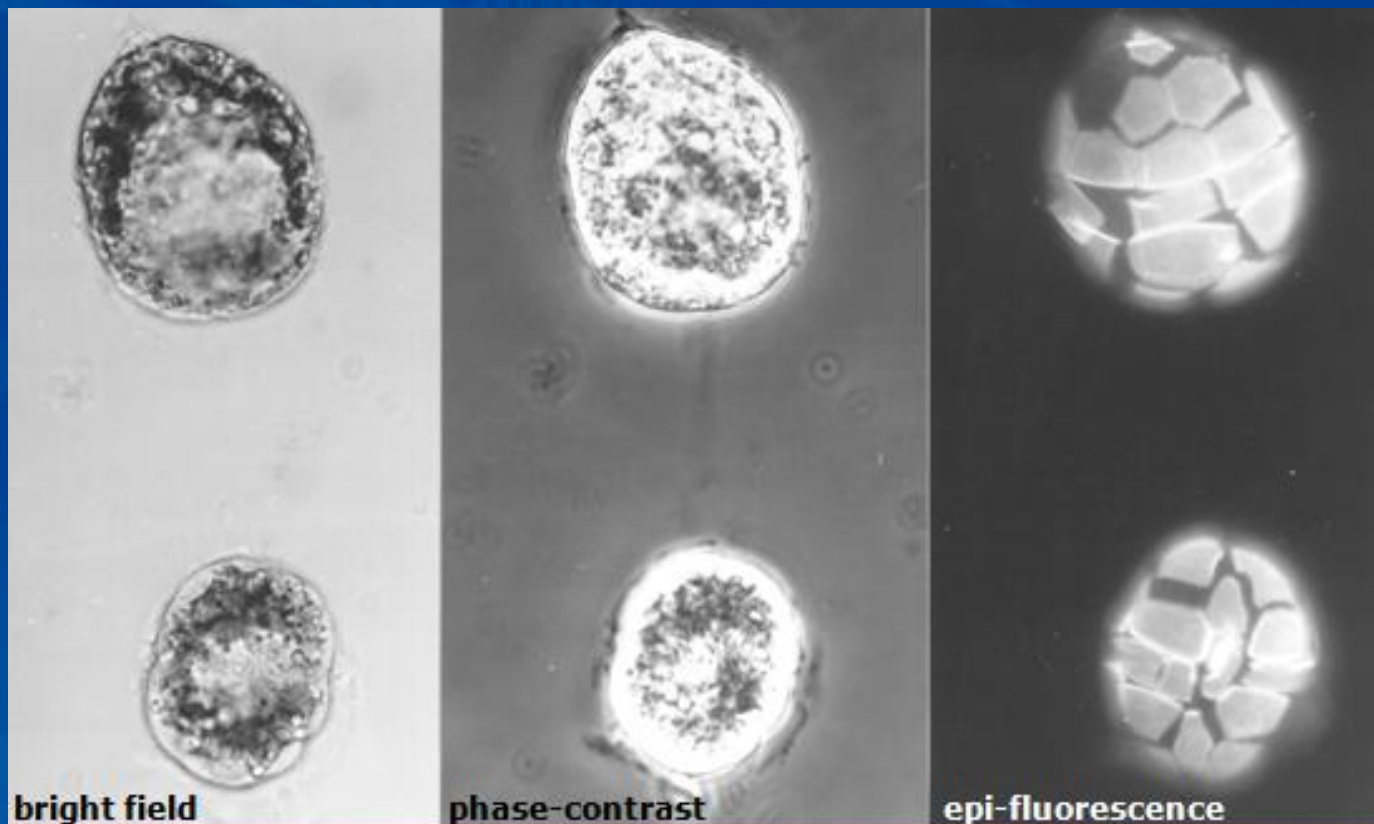




# Género *Alexandrium*

## Metodologías de análisis y detección

### Uso de microscopía de epifluorescencia



(Adaptado de Fraga, 2007)



# Género *Alexandrium*

## Metodologías de análisis y detección

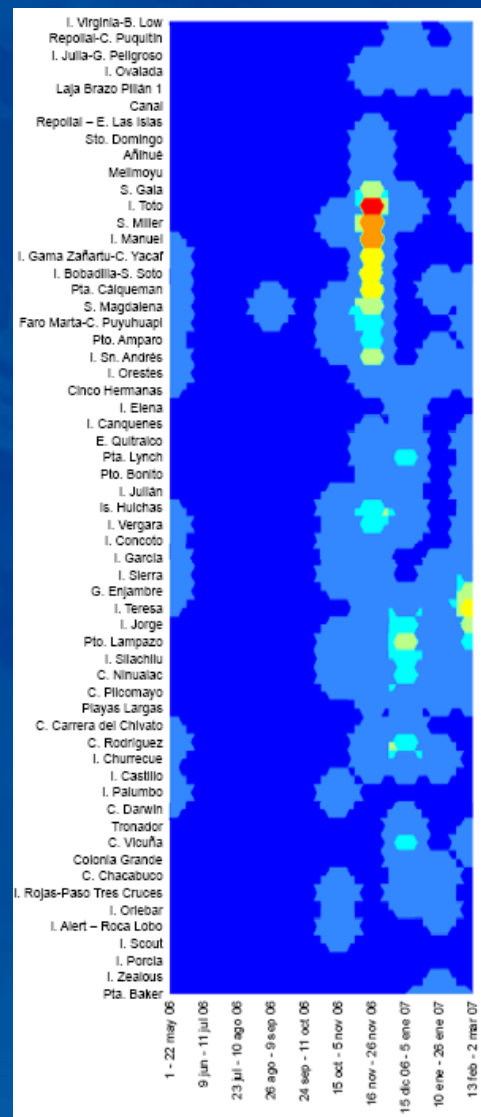
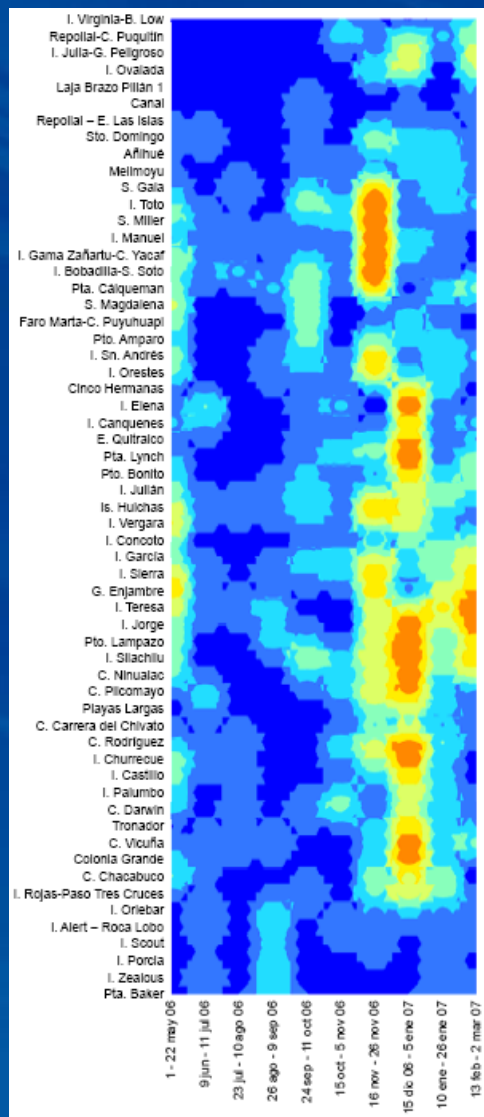
### Escalas de abundancia relativa para *Alexandrium*

	ESCALA	<i>A. ostenfeldii</i> , <i>A. cf. tamarense</i> (1)	<i>A. catenella</i> (2)
AUSENTE	0	0	0
RARO	1	1 - 5	1 - 2
ESCASO	2	6 - 15	3 - 10
REGULAR	3	16 - 35	11 - 42
ABUNDANTE	4	36 - 75	43 - 170
MUY ABUNDANTE	5	76 - 155	171 - 682
EXTREMADAMENTE ABUNDANTE	6	156 - 315	683 - 2730
HIPER ABUNDANTE	7	316 - 635	2731 - 10922
ULTRA ABUNDANTE	8	636 - 1275	10923 - 43690
MEGA ABUNDANTE	9	1276 - 2555	43691 - 174762



# Abundancia relativa y densidad *Alexandrium catenella*

## Región Aysén. Período mayo 2006 – febrero 2007





## *Alexandrium tamarense*

allado en madera por Dr. Haruyoshi Takayama

Símbolo de 12th International Conference

n Harmful Algae, Copenhagen, Denmark, 2006







# Los Lagos

Leonardo Guzmán

Gastón Vidal

Ximena Vivanco

Victoria Arenas

Gissela Labra

Patricio Mejías

Mauricio Palma

Christian Espinoza

Nicole Pesse

Loreto López

Pedro Calabrano

# Aysén

Luis Iriarte

Susana Mercado

Elías Fernández-Niño

Javier Monsalve

Raúl Hernández

# Magallanes

Gemita Pizarro

César Alarcón

Hernán Pacheco

Pablo Salgado

Claudia Zamora

Cristian Garrido

Roberto Raimapo

Jorge Toro

# MUCHAS GRACIAS