



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

SEDE
ESMERALDAS

ESCUELA DE GESTIÓN AMBIENTAL

TESIS DE GRADO

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMUNIDAD DE
MICROALGAS EPIBENTÓNICAS DE LA RESERVA
MARINA GALERA SAN FRANCISCO**

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE
INGENIERA EN GESTIÓN AMBIENTAL**

AUTORA

ANGÉLICA KATERINE RAMÍREZ SARMIENTO

ASESORA

PhD. OLGA CARNICER CASTAÑO

Esmeraldas – Noviembre, 2017

Trabajo de tesis aprobado luego de haber dado cumplimiento a los requisitos exigidos por el reglamento de grado de la PUCESE previo a la obtención del título de Ingeniera en Gestión Ambiental.

Presidente Tribunal de Graduación

PhD. Jorge Velazco Vargas

Lector 1

M.gt. Eduardo Rebolledo Monsalve

Lector 2

Mgt. Lucía Vernaza Quiñónez

Directora de la Escuela de Gestión Ambiental

PhD. Olga Carnicer Castaño

Directora de Tesis

Esmeraldas, de de 2017

AUTORA

Yo, Angélica Katerine Ramírez Sarmiento, declaro que la presente investigación enmarcada en el actual trabajo de tesis es absolutamente original, auténtica y personal.

En virtud que el contenido de esta investigación es de exclusiva responsabilidad legal y académica del autor y de la PUCESE.

Angélica Ramírez Sarmiento

C.I. 0804345569

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primero a Dios por ser mi sustento, el que me ha dado la valentía y fortaleza para seguir adelante y no desmayar.

A mis padres por ser mi apoyo durante el transcurso de mi vida académica.

Agradezco a mi asesora de tesis la Ph. D. Olga Carnicer Castaño, por haberme brindado su apoyo y conocimiento científico, a más de guiarme durante el transcurso del desarrollo de mi tesis y siempre estar presta para ayudarme en cualquier situación.

DEDICATORIA

Dedico de manera especial a mis padres Maryuri Sarmiento Leyton y Ángel Ramírez Cevallos, por ser el pilar fundamental en mi vida, por siempre apoyarme y afirmar en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación.

A mi compañero de vida John Medrano por estar siempre junto a mí apoyándome y brindándome su paciencia, amor y comprensión. A mi hija Danna Medrano por darme las fuerzas para seguir adelante y no dejarme caer, por ser mi motor e impulso en cada paso y decisión que tomo.

A mis sobrinos, para que en un futuro luchen por sus sueños.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AUTORA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Área de estudio	10
Análisis en laboratorio.....	11
Análisis de datos.....	12
3. RESULTADOS	13
Temperatura del lugar.....	13
Abundancias de dinoflagelados potencialmente tóxicos.....	13
Tamaño de las células.....	14
Figura 5: Medidas del ancho de las especies de <i>Ostreopsis</i> analizadas.....	15
4. DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIONES	22
RECOMENDACIONES.....	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Abundancias de <i>Ostreopsis</i> sp en las diferentes macroalgas durante los distintos días de muestreo (cell. G macroalga ⁻¹ ±SD).....	14
Tabla 2: Número de células de <i>Ostreopsis</i> , medias (cell.g macroalga, con su media y desviación estándar).....	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Dibujos lineales de las 9 especies de <i>Ostreopsis</i> descritas en la vista epitelial (superior) e hipotálica (inferior) (Accoroni, y otros, 2016).....	5
Figura 2: Sitio de muestreo en la costa del Ecuador: (1) Estero de Plátano, provincia de Esmeraldas, 0 ° 46 '50.077 "N: 80 ° 5' 17.866" W (Carnicer, García, Andree, Diogene, & Fernández, 2016)	10
Figura 3: Temperatura superficial del mar, tomadas en los muestreos realizados.	13
Figura 4: Histograma de la parte dorso ventral que presentaron las especies de <i>Ostreopsis</i>	15
Figura 5: Medidas del ancho de las especies de <i>Ostreopsis</i> analizadas.....	15

RESUMEN

Las microalgas son organismos cosmopolitas. Dentro de estas tenemos a las epibentónicas, las cuales se encuentran adheridas al sustrato marino y en ocasiones sobre macroalgas. Algunas especies son productoras de toxinas marinas que pueden representar una amenaza para la salud humana y el ecosistema marino. El presente estudio reporta la presencia de especies de dinoflagelados potencialmente tóxicos en la Reserva Marina Galera San Francisco. Para ello se muestreó en 6 ocasiones desde diciembre 2016 a mayo 2017 la zona de Estero del Plátano donde se recolectaron dos especies de macrófitos, *Padina* sp. y *Coralina* sp.

Se identificó al género *Ostreopsis* y *Prorocentrum*, aunque este último en baja abundancia. No se encontraron diferencias en cuanto a la abundancia de *Ostreopsis* sp entre las dos especies de macrófitos recolectadas, sin embargo, ésta fue más abundante en diciembre (max 861 ± 244 cel.g macroalga⁻¹) con respecto a las otras fechas. En cuanto a su morfología y tamaño, la especie encontrada podría tratarse de *O. cf. ovata*, identificada en la zona sin producción de toxinas. Con respecto a los resultados encontrados, el área estudiada no presentaría especies potencialmente tóxicas y no supone un riesgo a la salud humana, aunque no se puede descartar esto último a falta de estudios toxicológicos y aumento del área de estudio, sustrato y tiempo de muestreo en futuras investigaciones en la zona.

ABSTRACT

Microalgae are cosmopolitan organisms. Within these we have epibenthic, which are attached to the marine substrate and sometimes on macroalgae. Some species are producers of marine toxins that can pose a threat to human health and the marine ecosystem. The present study reports the presence of potentially toxic dinoflagellates species in the Marina Galera San Francisco Reserve. For this, the area of Estero del Plátano was sampled on 6 occasions from December 2016 to May 2017 where two species of macrophytes, *Padina sp.* and *Coralina sp.*

The genus *Ostreopsis* and *Prorocentrum* were identified, although the latter in low abundance. No differences were found in the abundance of *Ostreopsis sp* between the two species of macrophytes collected; however, this was more abundant in December (max 861 ± 244 cel.g macroalga-1) with respect to the other dates. As for its morphology and size, the species found could be *O. cf. ovata*, identified in the area without production of toxins. Regarding the results found, the area studied would not present potentially toxic species and does not pose a risk to human health, although the latter can not be ruled out due to a lack of toxicological studies and an increase in the study area, substrate and sampling time in future research in the area.

1. INTRODUCCIÓN

El fitoplancton es una comunidad de organismos fotosintetizadores que habitan en la zona fótica de la columna de agua. Estos organismos juegan un papel de gran importancia debido a que son la base de la cadena trófica, ya que capta la energía solar y produce a materia orgánica que luego será aprovechada por los fitófagos, zoófagos y finalmente por los detritófagos y bacterias. Además, ayudan a determinar la calidad del agua. Dependiendo del tamaño, éstos se dividen en picoplancton que oscilan entre 0,2 a 2 μm ; microplancton que va de 20 a 200 μm ; nanoplancton de 2 a 20 μm y meso plancton de 200 a 2000 μm (Oliva, Godínez, & Zuñiga, 2014). La materia orgánica que libera el fitoplancton ayuda a la incorporación de agregados carbonados y a la recirculación de nutrientes en las comunidades bacterianas (Abarzúa, Basualto, & Urrutia, 1995).

En el ecosistema bentónico habitan los bentos, éstos son seres vivos que se fijan en el fondo de toda la superficie de los mares y océanos. Este ecosistema tiene peculiaridades respecto a la zona pelágica que constituye la mayor superficie de los océanos y mantiene una alta productividad biológica debido a la presencia de aguas frías y con gran cantidad de nutrientes (Tapia, 2013). A su vez, los ecosistemas bentónicos de las costas son las más productivas ya que, al encontrarse a menos profundidad, la luz llega en grandes proporciones. Es en esta superficie donde se encuentran mayor diversidad de especies existente, entre ellas las macroalgas.

Las macroalgas marinas son organismos pluricelulares que se encuentran la mayor parte del tiempo adheridos en el sustrato en la zona fótica marina. Éstas presentan diversas coloraciones, las cuales les permiten habitar en diversas profundidades. Son de gran importancia debido a las funciones que desempeñan como el reaprovechamiento de nutrientes, la transformación de CO_2 en O_2 , y porque sirven de hábitat para gran número de microorganismos a los cuales también les suministra alimento, como lo son las microalgas. Las microalgas constituyen el primer eslabón de la base de la cadena trófica, es decir, son productores primarios que sintetizan compuestos orgánicos ricos en energía a expensas del CO_2 , H_2O y nutrientes. Son microorganismos autótrofos que contienen clorofila y son capaces de efectuar fotosíntesis ayudando al aporte de oxígeno al mundo viviente (Gómez L. , 2007). Según Oscanoa, Ynga, Chang, & Aguilar (2015), las microalgas constituyen el 0,5% de la biomasa global y pueden llegar a generar cerca del

70 % del oxígeno neto del planeta siendo más eficiente en la fijación del CO₂(Al-Harbi, 2017)

Las microalgas epibentónicas se encuentran adheridas al sustrato marino y en ocasiones arriba de la macroalga (Carnicer, 2014). Éstas viven en simbiosis ya que las macroalgas proporcionan nutrientes y protección a los microorganismos, y algunos de éstos producen sustancias que resultan tóxicas a ciertos predadores. Algunos de estos dinoflagelados son potencialmente tóxicos y son los causantes de síndromes de intoxicación en humanos como la ciguatera y la diarreica por mariscos (Peraza & Moreira, 2012). Estas microalgas deben ser estudiadas por su importancia ecológica y además por la amenaza que representan a los seres humanos de forma directa o indirecta ya que son capaces de generar toxinas (Aguilar, Okolodkov, Merino, Osorio, & Herrera, 2011). Estas microalgas epífitas se encuentran en mayor cantidad en las angiospermas marinas y las macroalgas, ya que estas les brindan el espacio suficiente para su refugio y alimento. La abundancia de estas especies varía en función del estrato en donde están. Según Boomber (1989), estos dinoflagelados epífitos prefieren algas tridimensionales, flexibles y de gran superficie como la macroalga *Coralina sp.* (Vila, Garcés, & Masó, Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean, 2001). Estas especies son consideradas indicadores de factores ecos toxicológicos en el ecosistema. El problema radica en que estas microalgas epífitas no han sido estudiadas a profundidad (Gómez, Fernández, Jover, & Delgado, 2012). Cabe destacar que es muy complicado poder identificar las especies por microscopia, por tal motivo se hace necesario utilizar biología molecular para realizarlo. Esto se debe a que se encubren en cuanto a tamaño, y la distribución de estructura externa es parecida.

Las microalgas bentónicas crecen adheridas tanto a macrófitos como a sedimentos arenosos y/o rocosos (Villalobos, 2015), y han demostrado ser muy importantes debido a que al ser productores primarios pueden llegar a favorecer la productividad marina en lugares poco profundos hasta en un 30 % (Wilson, 2006).

Uno de los hábitats más colonizados por estas especies son los ecosistemas bentónicos, los cuales se desarrollan desde la orilla del mar hasta los 50 metros de profundidad, donde llega la luz a las algas favoreciendo la fotosíntesis para formar materia orgánica que servirá de alimento para los consumidores.

Entre los factores que intervienen en el crecimiento de las microalgas bentónicas está la temperatura del agua, siendo éste un factor decisivo en el crecimiento de microorganismos bentónicos tóxicos (Carnicer, 2015). Otro factor es la calidad e intensidad de luz que llega a la microalgas, la salinidad y los nutrientes (fosfatos, nitratos, nitritos, silicatos) que se encuentran en el medio (Guerra, 2011). En ocasiones, debido al aumento de la concentración de dichos factores físico-químicos, se produce una proliferación de estos microorganismos. En el caso de que estos organismos sean tóxicos, alrededor de 50 especies dentro de las microalgas, se las denomina floraciones algales nocivas (FAN) o “Harmful Algae Bloom” (HAB). Este fenómeno causa una discoloración del agua a simple vista que dependerá del color de la microalga y puede producir efectos perjudiciales a la salud humana, actividades recreativas, actividades de acuicultura y en las poblaciones naturales de organismos marinos (Sar, Ferrario, & Reguera, 2002). En estos últimos según la densidad en las que se presenten las microalgas ($\geq 10^6$ cel/L) pueden llegar a matar peces e invertebrados, ya que pueden agotar el oxígeno del medio o bloquear sus branquias (Herrera, Sierra, & Hernández, 2008). Las floraciones de algas nocivas bentónicas se originan en aguas relativamente poco profundas, estas microalgas se fijan a diversos sustratos generando filamentos mucopolisacáridos y capas mucosas. Entre las condiciones que se presentan para el floramiento de éstas, está el movimiento de las aguas y su condición de calma. Los esfuerzos en el estudio de las especies como *Gambierdiscus* y *Ostreopsis* se han centrado en la comprensión de las adaptaciones fisiológicas de estos organismos a variaciones en las condiciones físicas, químicas y biológicas, que restringen o promueven su crecimiento y toxicidad (Berdalet, y otros, 2017).

Estas toxinas pueden llegar al hombre por medio de la red trófica, ya que se bioacumulan en las vísceras y en el tejido de los peces y moluscos. Algunas de estas toxinas resultan ser tan potentes que no es necesario que se encuentren en grandes concentraciones. Las biotoxinas se clasifican por los síntomas y por la toxina que causó la intoxicación entre estas encontramos: La ASP que es la toxina amnésica causado por la diatomea *Nitzschia pungens*, muy estudiada en el Ecuador, la cual provoca náuseas, vómitos, mareos y hasta puede llegar a causar la pérdida de memoria. La PSP toxina paralítica causada por los dinoflagelados *Alexandrium*, *Gymnodinium*, *Gonyaulax*, y *Pyrodinium*, esta toxina genera alteraciones neurológicas lo cual provoca quemazón, hormigueo, dificultad al momento de hablar por el adormecimiento de labios y lengua. La DSP toxina diarreaica

causada por los dinoflagelados *Dinophysis* y *Aurocentru*, entre los síntomas destaca los problemas gastrointestinales como dolor abdominal y diarrea. Además tenemos a la ciguatoxina la cual causa la intoxicación ciguatera provocada por el dinoflagelado bentónico *Gambierdiscus toxicus* que habita sobre macroalgas (Mancera, Montalvo, & Gavio, 2014), esta toxina ingresa a la red trófica cuando los peces herbívoros ingieren la *G.toxicus* mientras forrajea encima de macroalgas. Esta toxina se va acumulando en el tejido de los peces y a su vez se bioacumula en tejidos de peces que se encuentran en niveles superiores de la cadena trófica, siendo el ser humano el consumidor final (Celis & Mancera, 2015). Causan diversos síntomas en la salud humana, desde alteraciones gastrointestinales (vómitos, diarrea), neurológicas y en casos extremos puede causar convulsiones, parálisis muscular, colapso circulatorio y muerte (Arencibia, Mancera, & Gavio, 2013). Otro tipo de toxina generada por microalgas bentónicas es la palitoxina que son compuestos complejos no proteicos, producida por el género *Ostreopsis*, que estimulan la liberación de ácidos araquidónico y neurotransmisores, contrayendo el músculo liso (Dominguez, y otros, 2008), generando problemas en la salud humana asociados con la exposición a través de las actividades acuáticas y el consumo de organismos marinos contaminados, lo que provoca vértigos, parálisis muscular, diarrea, vómitos, convulsiones entre otros (Biré, y otros, 2013). Entre los síntomas por contacto están afectaciones a la piel y los problemas respiratorios en los bañistas provocadas por inhalación en aerosoles que son micro gotas de agua de mar (Reguera, Alonso, Moreira, & Méndez, 2011).

En la actualidad se han descrito nueve especies del género *Ostreopsis* (Figura 1), entre las cuales tenemos: *Ostreopsis siamensis* Schmidt, que fue la primera especie de dicho género encontrada en el golfo de Tailandia, seguidas por las especies *Ostreopsis cf. ovata*, *Ostreopsis lenticularis* descritas por Fukuyo en la Polinesia Francesa y en la isla Fukuyo en Japón. Luego, se identificaron otras 6 especies: *Ostreopsis heptagona* encontrada en el Golfo de México; *Ostreopsis mascarenensis* descrita en el Océano Índico Occidental; *Ostreopsis labens*, *Ostreopsis marinus*, *Ostreopsis belizeanus* y *Ostreopsis caribbeanus* encontradas en el mar del Caribe y en América central (Carnicer, 2014). La identificación taxonómica de este género ha sido muy discutida debido a la variabilidad que existe dentro de cada especie, además resulta muy difícil distinguir las distintas especies de *Ostreopsis* ya que presentan gran similitud en su forma, tamaño, exhibición de placas y porque se superponen. Además, todas las especies poseen el mismo patrón de placa por

lo que se las confunde muchas veces con la especie *O. Siamensis* (David, Laza, Miguel, & Orive, 2013). Este género es muy común en zonas tropicales y subtropicales del Pacífico, aunque ha mostrado una creciente aparición en zonas templadas en el mar Mediterráneo lo que la ha convertido en el centro de atención y por ende se han incrementado los estudios de este género en Europa (Herrera, Sierra, & Hernández, 2008).

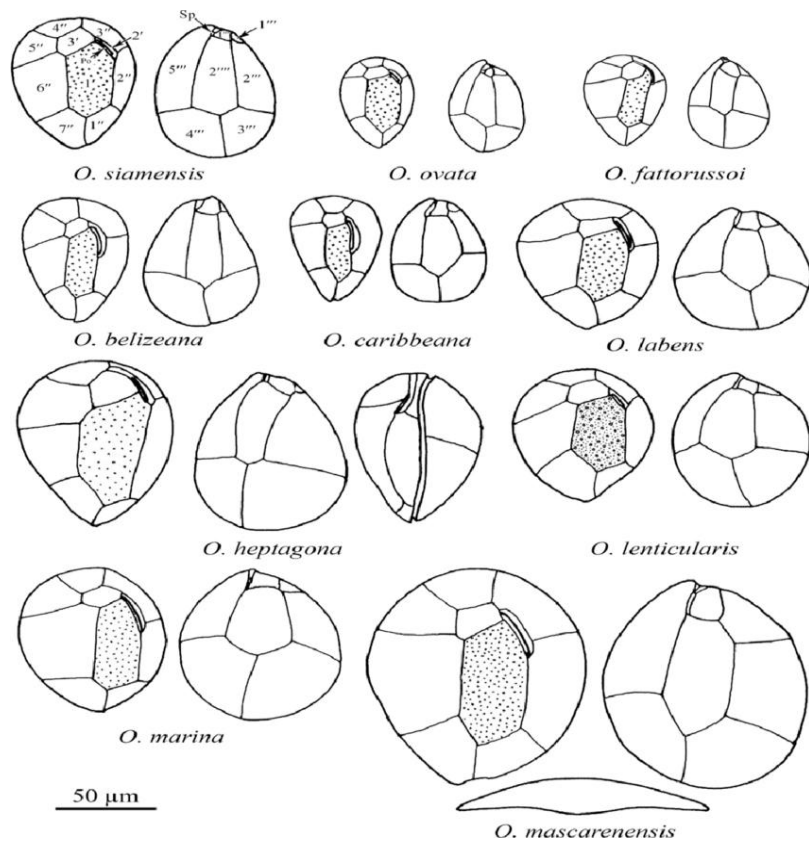


Figura 1: Dibujos lineales de las 9 especies de *Ostreopsis* descritas en la vista epitelial (superior) e hipotálca (inferior) (Accoroni, y otros, 2016).

A nivel mundial, se han realizado numerosos estudios referentes a la diversidad, ecología y toxicidad de estas especies de microalgas epibentónicas en zonas tropicales y templadas. En el mar Mediterráneo hace más de dos décadas se han venido realizando estudios a lo largo de las costas sobre especies de microalgas epibentónicas (Rodríguez & Clerck, 2009). Tal es el caso de Italia, en el Mar Mediterráneo, donde se han registrado floramientos de *Ostreopsis cf. ovata* y *Ostreopsis* spp., los cuales han causado daños a bañistas expuestos, ocasionando, conjuntivitis, dermatitis y afecciones respiratorias

(Moreira, 2010). Así mismo, en el noroeste del mar Mediterráneo en la playa de Sant Andreu de Llavaneres se han registrado eventos tóxicos debido a proliferaciones de *Ostreopsis Ovata* lo que ha generado problemas en bañistas por contacto cutáneo e inhalación por aerosol (Casabianca, y otros, 2013). Otro caso fue el que se presentó en la Islas Canarias donde se identificó a la especie *Gambierdiscus exentricus* la cual estaba relacionada con la aparición de la ciguatera que es la causante de problemas gastrointestinales y en ocasiones la muerte (Fraga, y otros, 2011).

En el mar del Caribe se han elaborado algunos estudios, tal es el caso de Cuba, donde se han encontrado las especies *O. ovata* y *O. siamensis*, consideradas tóxicas (Moreira, 2010). Otro estudio se realizó en Yucatán suroeste del Golfo de México donde se registraron 26 especies de dinoflagelados como *Gambierdiscus caribaeus*, *Ostreopsis heptagona*, *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis*, entre otros (Aguilar, Okolodkov, Merino, Osorio, & Herrera, 2011). En Puerto rico se ha encontrado la especie del género *Ostreopsis lenticularis* considerada una especies dominante en el sector (Moreira, 2010). También se han encontrado en el mar del Caribe Mexicano especies del género *Gambierdiscus*, consideradas tóxicas, demostrando que se encuentran a lo largo del litoral del Caribe Mexicano (Hernández & Almazán, 2004). Así mismo, en el Golfo de Cariaco Venezuela se lograron identificar 9 especies de los géneros *Ostreopsis* y *Porocentrum*, siendo la de mayor abundancia la especie *O. siamensis* (Navarro, Díaz, Troccoli, & Subero, 2014)

En Ecuador se han realizado escasos estudios en cuanto a la caracterización de la comunidad fitoplanctónica en sus costas. El Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR) y el Instituto Nacional de Pesca (INP) realizan monitorios oceanográficos y costeros, lo que incluye muestreos de fitoplancton, debido a que se han registrado eventos ocasionales de mareas rojas. Tal es el caso del Golfo de Guayaquil y las costas de las islas Galápagos que han reportado casos de mareas rojas o FAN, originarios de diferentes especies de dinoflagelados (*Gonyaulax monilata*, *Scropsiellatrochoidea*, *Chattonella subsalsa*, *Porocentrum Gracile*). Se han registrado tres eventos de mortandad de peces relacionados con las mareas rojas en el Golfo de Guayaquil (Comisión Oceanográfica Intergubernamental, 2003). Sin embargo, el monitoreo del ecosistema bentónico no se ha realizado, existiendo un vacío de información al respecto. Además, destaca un trabajo realizado en el perfil costero del cantón Machala sobre la caracterización de las especies

de fitoplancton, donde se logró identificar en mayor porcentaje las diatomeas (Sanmartín, 2012). Otro trabajo realizado en las islas Galápagos sobre el plancton, muestra 71 especies de fitoplancton que fueron identificadas en 12 estaciones, siendo las diatomeas la especie dominante, seguido de dinoflagelados, de cocolitofóridos y de cianobacterias, entre otros (Tapia & Naranjo, 2011). Sin embargo, las especies bentónicas han sido relevadas a un segundo plano puesto que solo hay constancia de un estudio reciente realizado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en el 2015 en las costas de las provincias de Manabí (Playa Mateo), y en Esmeraldas en la comunidad de Estero de Plátano, lugar donde se realiza este estudio. En las muestras de aguas extraídas de macrófitos del género *Padina*, se encontró por primera vez al género *Ostreopsis* cf. *ovata*. Sin embargo, tras un ensayo hemolítico, se determinó que esta cepa no es tóxica (Carnicer, García, Andree, Diogene, & Fernández, 2016). Como consecuencia de la gran problemática ambiental y socio-económica generada por la presencia de microalgas tóxicas en el medio acuático Europa ha implementado un marco legal normativo con respecto a la calidad de las aguas de baño. Esta normativa hace referencia a la vigilancia en caso de que exista riesgo en la proliferación de algas (macroalgas y/o fitoplancton). La normativa europea prohíbe la comercialización de moluscos bivalvos que rebasen los límites permisibles. Es por ello, por lo que se deben realizar monitoreos y controles para que esta normativa se cumpla (Reglamento 1881/2006; Reglamento 2073/2005) (Gámez & Padilla, 2012). El reglamento 853/2004 señala que no se podrá poner a la venta moluscos bivalvos que tengan la biotoxina ciguatera o la PSP. Además, en su artículo 11 nos dice en el apartado de decisiones que se establecerá normas sanitarias donde se establezcan los valores máximos y los métodos de análisis aplicables para las biotoxinas marinas. Para la concentración de dinoflagelados epibentónicos, como la *Ostreopsis*, no existe todavía una regulación oficial, sin embargo, Italia y Francia si establecen recomendaciones, mediante un protocolo de seguimiento e intervención para prevenir la aparición de casos humanos relacionados a la presencia de este género de microalgas. En este protocolo se eleva la concentración de alerta por *Ostreopsis* de 4000 a 30000 células/ml en la columna de agua, debido a que la presencia de estos blooms afecta a la salud humana (EHESP, 2009).

En Ecuador existe un Plan Nacional de Control basado en la exportación de productos pesqueros y acuícolas, el cual contiene un monitoreo que toma en cuenta parámetros como contaminantes químicos, ambientales y microbiológicos (Instituto Nacional de Pesca, 2015). Además, en este plan se toma en cuenta el Codex Alimentarius que habla

sobre las normas internacionales de los alimentos, el cual hace referencia al peligro derivado de las biotoxinas producidas por algunas algas considerándolas peligrosas, por tal motivo se establece un control de éstas (OMS & FAO, 2009).

También tenemos la norma NTE INEN 2846 para el pescado ahumado, sabor a humo y secado con humo que es una modificación de la norma internacional Codex satn 311-2013, donde señala que los productos incluidos en esa norma deberán cumplir con los niveles máximos de la Norma General para los Contaminantes y las Toxinas presentes en los Alimentos y Piensos (CODEX STAN 193-1995).

Aún en nuestro país no existen leyes ni reglamentos que establezcan límites permisibles en las proliferaciones de algas en los mares, por tal motivo no se realizan monitoreo de las aguas, y los estudios sobre estos microorganismos se ven escasos. Sólo hay un libro de legislación secundaria TULSMA en cual en su libro VI anexo 1, habla sobre los límites permisibles, las disposiciones y las prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas, en las que toma en cuenta las aguas de uso agrícola e industrial, las cuales podrían ingresar en las aguas marina y causar blooms por el exceso de nutrientes. Además, en su artículo 207 establece que se realizarán controles por medio de estudios de bioacumulación de sustancias o elementos químicos y biológicos que se encuentren en los tejidos animales. En el artículo 253 decreta que se realizará seguimientos permanentes por medio de la Autoridad Ambiental a proyectos u obras para que se cumpla el Plan de Manejo Ambiental realizándose monitorios. Cabe recalcar que no se menciona un límite de concentración permisible de proliferaciones algales.

Por lo mencionado anteriormente, se puede observar un vacío legal en este aspecto. Es por ello, que es necesario aumentar el número de estudios en el área, para poder identificar la existencia de especies potencialmente tóxicas y poder plantear medidas preventivas en un futuro.

En la parroquia Galera, cantón Muisne, al sur de Esmeraldas, se encuentra Estero de Plátano, una comunidad pequeña de pescadores. La pesca es la actividad que realizan para sostener a sus familias, entre ellas se encuentra la pesca del pulpo, animal de hábitat bentónico. En un estudio realizado en la costa mediterránea francesa se demostró que las palytoxinas producidas por las *Ostreopsis* pueden acumularse en los tejidos de varios organismos marinos, entre éstos el pulpo, pudiendo ser transmitidas al ingerirlas por los consumidores de este marisco (Biré, y otros, 2013). En este estudio nos planteamos

estudiar la distribución y abundancia de estas especies en esta zona y así tener una línea base para en un futuro evaluar el peligro que éstas pudieran ocasionar en la salud humana y el ecosistema marino.

Por tal motivo, para la realización del presente estudio se estableció como objetivo general caracterizar la comunidad de microalgas epibentónicas en la reserva Marina Galera San Francisco con el fin de identificar especies potencialmente tóxicas, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Recolectar muestras de 2 especies macrófitos en la Reserva Marina Galera San Francisco para sustraer la comunidad de microalgas epibentónicas.
- Identificar los principales géneros de microalgas epibentónicas asociadas a los macrófitos.
- Medir las células de *Ostreopsis* encontradas en las muestras.
- Estimar la abundancia de las microalgas epibentónicas de los géneros identificados.
- Identificar si existen diferencias entre la abundancia de dinoflagelados en función de las macroalgas a estudiar y la fecha de recolección.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La reserva marina Galera San Francisco se encuentra ubicada al sur de la provincia de Esmeraldas, sus límites están dentro del cantón Muisne: Galera, Quingue y Cabo San Francisco, por lo que considera una de las reservas con mayor extensión después de la de Galápagos. Posee una extensión de 54.604 ha y una línea costera de 37 Km (Carrasco, 2009), un clima regional tropical húmedo y seco, con temperaturas que oscilan entre los 24°-25°C. Estero de plátano es una de las cuatro poblaciones que tienen playas contiguas a la Reserva Marina Galera San Francisco. Está situada en la parroquia Galera del Cantón Muisne, Provincia de Esmeraldas y posee un clima que oscila entre los 21°C y 32°C. (Figura 1).

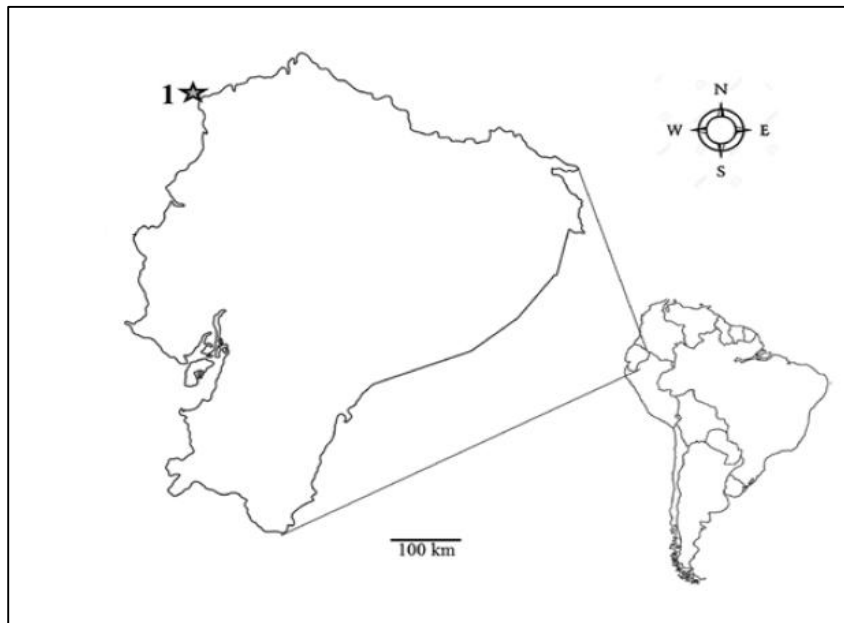


Figura 2: Sitio de muestreo en la costa del Ecuador: (1) Estero de Plátano, provincia de Esmeraldas, 0 ° 46 '50.077 "N: 80 ° 5' 17.866" W (Carnicer, García, Andree, Diogene, & Fernández, 2016)

El ancho de la playa varía con una zona intermareal que llega hasta el muro de contención de 50 a 80 m, la barrera tiene 1 m de altura y 1,5 m de ancho, desarrollando aquí actividades ganaderas, forestales, pesqueras y turísticas recreativas (Bossano, 2015). En

la parte derecha de la playa se encuentran macrófitos que son plantas acuáticas, estos comprenden a las macroalgas las cuales se encuentran adheridas al sustrato, y es aquí donde se realizan los muestreos.

Fase de campo, muestreo

Se recolectaron las microalgas epibentónicas, en el recinto de Estero de Plátano (0°46'44.04"; 80°5'20.87 O)", durante el lapso de 5 meses en los que se realizaron 6 muestreos durante la marea baja. En cada muestreo se tomaron 3 muestras del género de macrófito *Padina* sp. y otras 3 de *Coralina* sp., por ser las especies más abundantes encontradas en la zona establecida para el muestreo.

El procedimiento consistió en recolectar algunos ejemplares de los géneros antes mencionados de macroalgas aproximadamente a 1 metro de profundidad en botellas de plástico de 500 mL, a las cuales se les colocó 400 mL de agua de mar en un punto determinado de la Playa Estero de Plátano, cada género fue recolectado por separado. (Ver anexos).

Enseguida se procedió a agitar vigorosamente las botellas durante 1 minuto, y después se filtró el agua con una malla de 300 µm para separar sedimentos suspendidos. El agua de mar filtrada se fijó con lugol al 3% y se procedió a realizar movimientos envolventes a las botellas. Las macroalgas se guardaron en un envase aparte. Las muestras se colocaron en el cooler con hielo hasta llegar al laboratorio y conservadas a una temperatura de 5°C (Carnicer, García, Andree, Fernández, & Diogene, 2016). También se midió la temperatura *in situ* mediante una sonda.

Análisis en laboratorio

Una vez en el laboratorio se procedió a pesar las macroalgas de los géneros *Padina* y *Corallina* en una balanza semianalítica MS Mettler Toledo con una capacidad de 320 g y sensibilidad de 0,1 mg.

Para la estimación de la abundancia de las microalgas, las muestras fueron aclimatadas a temperatura ambiente y agitadas suavemente con movimientos en forma de un 8 de

manera continua durante 1 minuto para homogeneizar la muestra. Luego se sedimentó la muestra de agua en una cámara de Utermöhl de 3 mL por el lapso de 1 hora, y se procedió a realizar el recuento de las microalgas con ayuda de un microscopio invertido OPTICA.

El recuento de las microalgas con el microscopio invertido OPTICA se realizó con un aumento de 40x en toda la superficie de la cámara en forma de zigzag, centrandó la atención en los géneros *Ostreopsis*, *Prorocentrum* y *Gambierdiscus*. Se tomaron fotos de algunas de ellas, con ayuda un software llamado OptikaVision Lite, software de tratamiento de imágenes que permite analizar la muestra y realizar una medición de líneas.

Con la cámara del software OptikaVision Lite se midieron las *Ostreopsis*, este programa estaba previamente calibrado para este tipo de microalga. Se procedió a tomar una foto de esta microalga y se realizó las respectivas medidas de ancho y largo de cada célula.

Análisis de datos

La comparación de abundancia y tamaño de las células presentes en los diferentes géneros de macroalgas y días de muestreo, se realizó mediante el análisis de varianza multiparamétrico (ANOVA) con el programa SPSS, las diferencias significativas son aquellas que tengan un *valor p* < 0,05.

3. RESULTADOS

Temperatura del lugar

La temperatura presentada en el mar de Estero del Plátano durante los diferentes meses de muestreo (diciembre, enero, marzo, abril y mayo) no tuvo variación significativa, oscilando entre los 27 °C a 28 °C (Figura 2).

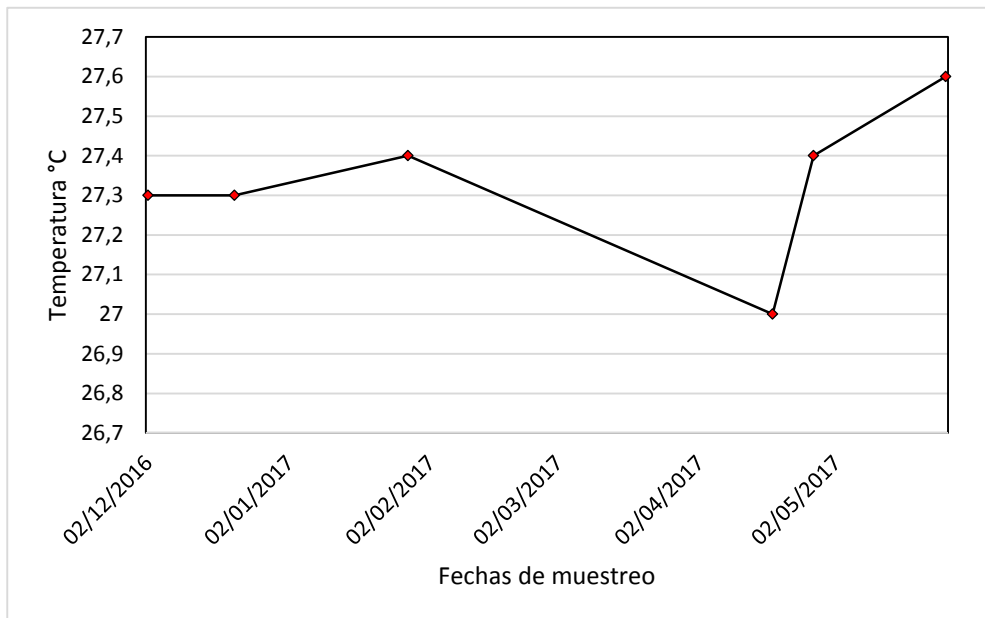


Figura 3: Temperatura superficial del mar, tomadas en los muestreos realizados.

Abundancias de dinoflagelados potencialmente tóxicos

No se evidenció ninguna célula de *Gambierdiscus*, ni *Coolia*, en el recuento de las microalgas, pero sí presencia de *Prorocentrum* en ciertas muestras, aunque la densidad de la misma se mostró relativamente baja en los análisis realizados, por ende, no se realizó la tabulación de esta especie.

La abundancia de *Ostreopsis sp* en las dos macroalgas no tuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$, ANOVA). Con lo que respecta a las fechas de muestreo, si se encontró diferencia, encontrando mayores cantidades en diciembre (max 861 ± 244 cel.g macroalga⁻¹ el 21 de diciembre en el género Coralina) Tabla 1.

Tabla 1

Abundancias de Ostreopsis sp en las diferentes macroalgas durante los distintos días de muestreo (cell. G macroalga⁻¹ ±SD)

Fecha	Macroalga	
	Coralina	Padina
2-dic-16	583 ±636	589 ±392
21-dic-16	861 ±244	346 ±98
28-ene-17	781 ±260	358 ±151
18-mar-17	136 ±63	241 ±129
27-abr-17	48 ±5	107 ±36
26-may-17	44 ±13	87 ±10

Tamaño de las células

Se midieron un total de 20 células por salida, repartidas de la siguiente manera: 10 *Ostreopsis* encontradas en la macroalga Padina, y otras 10 *Ostreopsis* encontradas en la macroalga Coralina, teniendo como resultado en las 6 salidas un total de 121 células de *Ostreopsis*. Las células presentaron un tamaño pequeño (Tabla 2) y una forma elipsoidal, en forma de lágrima.

La distribución de las medidas sigue un patrón normal (Figuras 3 y 4).

Tabla 2

Número de células de Ostreopsis, medias (cell.g macroalga, con su media y desviación estándar

	N°	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
dv	121	38,99	64,68	50,4925	4,93646
w	121	23,09	45,34	30,8771	4,66736

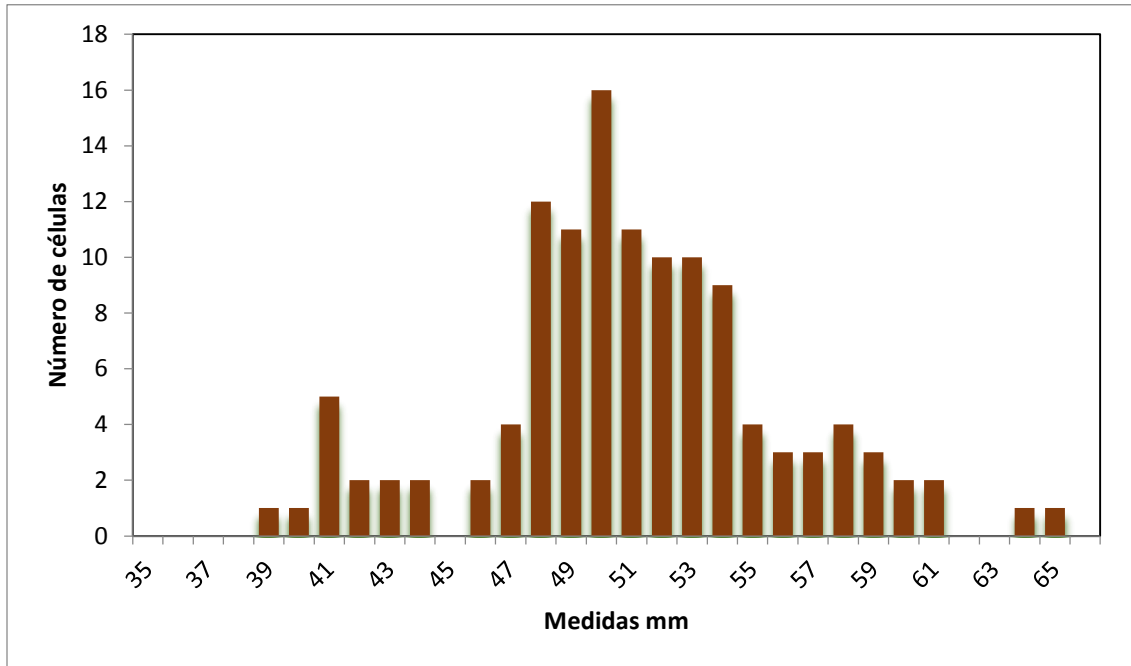


Figura 4: Histograma de la parte dorso ventral que presentaron las especies de *Ostreopsis*.

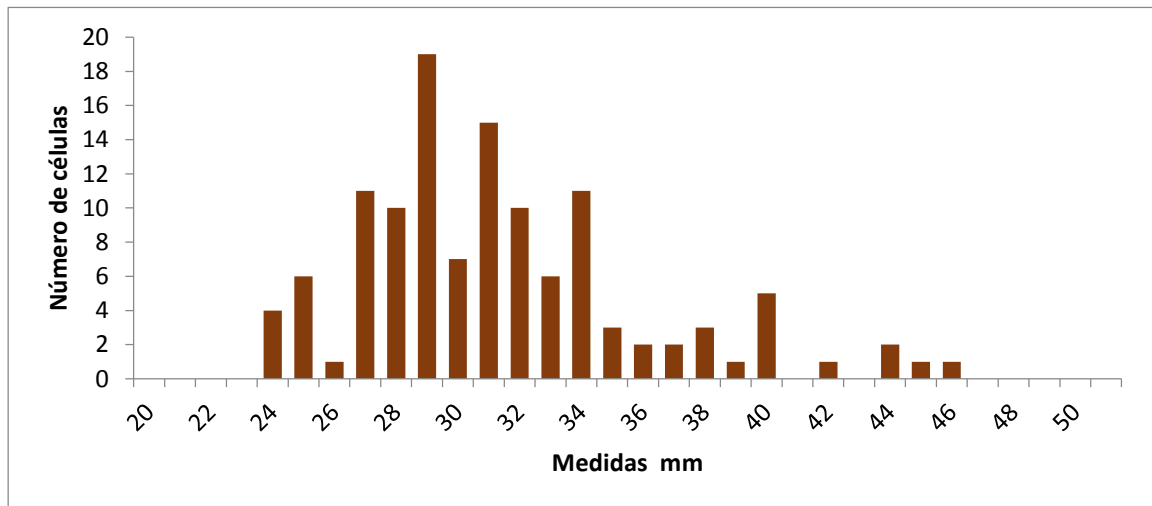


Figura 5: Medidas del ancho de las especies de *Ostreopsis* analizadas.

4. DISCUSIÓN

El presente trabajo establece una caracterización de microalgas epibentónicas potencialmente tóxicas presente en la Reserva Marina Galera San Francisco, en la cual se pudo identificar al género *Ostreopsis* en abundancias relativamente bajas, así como al género *Prorocentrum*, en todavía menores concentraciones.

Para poder realizar una aproximación en cuanto a la identificación de la especie de *Ostreopsis* encontrada, se realizaron mediciones de las células ya que, al estar limitados en recursos, no se ha podido realizar mediante métodos como calcofluor para observar las placas, ni microscopía electrónica, ni biología molecular, siendo éstas herramientas que en la actualidad se utilizan para la identificación de dinoflagelados (Berdalet, y otros, 2017). Según Marín & Reguera (2011), la biología molecular se ha mostrado como una eficaz herramienta para los estudios de filogenia molecular, taxonomía molecular y biodiversidad de fitoplancton, lo que ha generado nuevas opciones en situaciones donde la microscopía óptica resulta insuficiente. Otro método ya mencionado es la microscopía electrónica de barrido la cual, según Boltovkoy (1995), permite observar y fotografiar a los dinoflagelados con gran detalle en la superficie de las tecas y quistes, pudiendo esclarecer y mostrar estructuras que serían complicadas observar con el microscopio óptico. El problema con este método radica en sus costos, ya que es una herramienta de alto precio, y por ende de difícil adquisición para los trabajos de rutina. Por tal motivo, este estudio utilizó la medición del tamaño, porque dicho parámetro representa un rasgo característico para saber la morfología (Gilabert, 2007).

Las medidas encontradas en este estudio, están dentro de las medidas de la especie *Ostreopsis cf. ovata*, la cual fue encontrada anteriormente por Carnicer et al., (2016) en el mismo lugar de muestreo y que, según ensayos hemolíticos resultó ser no tóxica. Por lo tanto, se podría suponer que la especie encontrada en nuestro estudio corresponde a *O. cf. ovata* y no es tóxica. Aun así, esto no se puede afirmar, ya que dentro de esta especie existen 3 diferentes subespecies diferenciándose en cuanto a su procedencia y toxicidad, en el caso del estudio realizado por Carnicer et al., (2015) en el mar mediterráneo, se evidenció blooms tóxicos de *Ostreopsis cf. Ovata*, los cuales causan daños en los bañistas, mostrando así que la presencia de estos microorganismos en algunos lugares son tóxicos y en otros no, pudiendo ser por los cambios ambientales que se puedan experimentar en el lugar, como temperatura, nutrientes, entre otros. Sin embargo, aún no sabe con certeza

que mecanismos existen para que una especie sea tóxica o no, puede deberse a factores ambientales específicos ya sean de origen biótico o abióticos, o ser una adaptación, lo que refleja algún aspecto de la evolución de esta especie, en el estudio realizado por Carnicer et al. (2014) según los resultados que habían obtenido notaron que la toxicidad ambiental había aumentado a los 28°C, por lo que se plantearon la hipótesis de que a temperaturas más elevadas, la producción de toxinas puede acelerarse, sin embargo, aún se necesitan de más investigaciones que nos ayuden a saber si la producción de toxinas se encuentra relacionada con las condiciones ambientales que presenta un lugar. Además de la *Ostreopsis cf. ovata*, existen 9 especies de microalgas. Recientemente se han encontrado 2 nuevas especies de *Ostreopsis*. Una de éstas es la *Ostreopsis Fattorussoi Sp. Nov.* descritas en las costas del mar Mediterráneo Oriental, Líbano y Chipre, es una especie de tamaño pequeño, que produce OVTX-a e isómeros estructurales OVT-d-y-e, al igual que la *Ostreopsis ovata*, siendo éstas las dos únicas especies en producir este compuesto tóxico (Accoroni, y otros, 2016). Todas las especies de *Ostreopsis* tienen similitudes en cuanto a morfología y algunas de ellas tienen tamaños que se solapan entre sí, por lo que no se puede descartar el hecho de encontrar nuevas especies en la zona estudiada, Además, la especie *Ostreopsis siamensis* coexiste en muchas ocasiones con *O cf. ovata* solapándose en tamaño, haciendo imposible su distinción sin biología molecular (David et al., 2013). Esta especie también ha sido identificada como tóxica en algunas zonas (Moreira, 2010).

La abundancia del género *Ostreopsis sp.* encontrada en el presente estudio se ha mostrado más baja que en otras investigaciones elaborados cerca del océano Pacífico como es en el caso de las investigaciones (Navarro et., al 2014), (Carnicer et al.,2016), (Aguilar et al., 2011), realizadas en las costas de Venezuela, del Ecuador y de México respectivamente, donde se realizan este tipo de estudios a lo largo del año, a excepción del Ecuador el cual fue un estudio puntual en el mes de mayo del 2015, sin la presencia de blooms, siendo constantes la mayor parte del tiempo. Las abundancias presentadas pueden deberse a que el lugar donde se realizó la investigación no es óptimo para el floramiento de las mismas, ya que es un área con gran cantidad de sedimentos, lo que no permite la llegada de la luz solar, además, presenta gran turbulencia a causa de las olas, por lo que no existe una condición de calma que según Berdalet et al., (2017) es unos de los factores que propicia el floramiento de algas nocivas. En zonas tropicales como las costas de Río de Janeiro se evidencia la presencia de las mismas en temperaturas superiores a 23°C; el aumento que hay en las temperaturas debido a variaciones climáticas es el causante del crecimiento de

las mismas. En el caso del presente estudio las abundancias encontradas fueron relativamente bajas, esto puede deberse a que al período utilizado para el muestreo fue de tan solo 6 meses, por lo que no se puede descartar la presencia de otras especies tóxicas si antes realizar estudios a lo largo de todo el año en estas costas (Tichadou, y otros, 2010). En las islas Galápagos se ha encontrado el género *Ostreopsis* en abundancias mayores y en blooms (Yépez, 2017 en preparación). En el caso de áreas templadas, éstas células pueden alcanzar abundancias muy elevadas, por ejemplo, pueden llegar a 1 millón cel/g m, como es el caso del mar Mediterráneo donde se ha presenciado la aparición de blooms. En Sant Andreu de Llavaneres, en la costa catalana, Vila, *et al.*, (2016) presenciaron el floramiento de *Ostreopsis*, asociado al aumento de temperatura de aire y agua y a la intensidad del viento lo cual propició el crecimiento exponencial de las mismas. Así mismo se han registrado estos floramientos en Italia, en España, en Croacia, en Túnez y en Grecia, provocando problemas en la salud humana (Tichadou, y otros, 2010), debido a que la palitoxina que genera, y así mismo afectar al ecosistema marino. Con respecto a Ecuador en general, sólo un estudio detectó la presencia de *Ostreopsis sp.* que fue el realizado por Carnicer *et al.* (2016), sin embargo, se han presentado eventos de blooms de otras especies de dinoflagelados como *Prorocentrum sp.* la cual fue encontrada en el presente estudio pero en cantidades relativamente bajas, este registro tuvo lugar en Guayaquil específicamente en la Isla Puná, Jambelí y Estero Salado; según el estudio realizado por Torres, (2011), en nuestro país se han registrado 131 eventos de mareas rojas (principalmente por dinoflagelados) en sectores de mayor actividad antrópica, lo que generó alteración en la fauna del lugar, causando muerte de camarones, larvas de camarones y peces como el bagre que es una especies de habitat bentónico.

Uno de los factores ambientales que se tomó en cuenta durante la recolección de muestras fue la temperatura, la cual se mantuvo constante durante los meses que duró el muestreo de 26 °C a 27 °C. Según Gilabert, y otros (2007), la temperatura es un parámetro decisivo en la proliferación de las microalgas, variando según la especie, en el caso de zonas templadas la proliferación del género *Ostreopsis sp.* se da con el aumento de temperatura, y en invierno en algunas ocasiones desaparecen porque viven enquistadas. Además de la temperatura existen diversos factores ambientales que intervienen en el crecimiento de estas microalgas como los nutrientes, turbulencia, olas, luz, salinidad entre otros (Berdalet, y otros, 2017). Un dato importante es la influencia que tiene el calentamiento global en los floramientos de microalgas tóxicas, ya que estos microorganismos

autótrofos se ven gravemente alterados por este evento, lo cual involucra diversos problemas como son; acidificación de los océanos provocada por la incorporación de CO₂ antropogénico que se proyecta continuará hasta el año 2100, disminuyendo el pH de manera continua; aumento de la temperatura que según el informe del IPCC nos dice que es factible que para fines del siglo XXI, la temperatura global en superficie sea mayor en 1,5 °C a la del período entre 1850 y 1900 generándose temperaturas calientes más extremas. Esto puede favorecer a la proliferación de estos microorganismos debido a cambios en su metabolismo, estimulando su crecimiento; etc., siendo el principal culpable el hombre y la actividad industrial que éste realiza con la quema de combustibles fósiles. Aunque aún no se ha aclarado si los floramientos de microalgas tóxicas están relacionados de manera directa con el cambio climático, hay que tomar en cuenta que estos cambios que se producen en el mar ya sea en sus corrientes o intensidad de las olas, a causa del cambio climático pueden afectar de forma indirecta en la abundancia y distribución de especies bentónicas, como el pulpo el cual es una especie capturada en Estero de Plátano para luego ser comercializada y consumida (Tester et al., 2017). Dentro de las actividades realizadas en la provincia de Esmeraldas tenemos la producción de derivados de petróleo, producción de aceite, industria de tableros contrachapados, y transporte de petróleo y sus derivados por medio de un sistema de transporte de oleoducto ubicado en el puerto de Balao, estas actividades generan productos contaminantes que terminan en los cuerpos de agua liberando compuestos tanto orgánicos como inorgánicos los cuales poseen elevadas concentraciones de nitrógeno y fósforo lo que origina la eutrofización que es la proliferación de microalgas muchas veces perjudiciales para el hombre (Hernández & Labbé, 2014). Sin embargo, en Estero del Plátano la calidad del agua es muy buena ya que en el lugar no existen industrias cercanas, ni centro poblados importantes que puedan generar contaminación marina que traería como consecuencia hábitat propicios para los floramientos algales nocivos. El método utilizado para calcular la abundancia de especies fue el de recolección de sustratos, que según Berdalet et al., (2017) es el método más común para estimar la abundancia de las floraciones algales nocivas, el cual consiste en tomar muestras de la macroalga, el coral o de arena, colocarlas en un envase, agitarla y tamizarlas para separar organismos de mayor, por último se las guarda para realizar el conteo. La problemática del este método rudimentario es la destrucción de los corales y macroalgas al momento de tomar las muestra. En la actualidad existen varios métodos para estimar la abundancia de estas especies, aunque no había ningún método estándar concurrente con la complejidad estructural, y la variedad de sustratos donde estos

microalgas se fijen y así poder realizar este procedimiento de manera eficaz. En un futuro sería interesante estandarizar la metodología para la comparación de las muestras entre los estudios, este método debería ser adaptarse a las condiciones de habitat y de la complejidad estructural de las microalgas para conseguir un procedimiento de muestreo exitoso. Actualmente, se ha planteado el uso de un sustrato artificial como un método estándar para el muestreo de especies de HAB benticas, así es como Jauzein et al., (2016) realizaron un estudio donde definen las avances técnicas de este método, para esto utilizaron pantallas de fibra de vidrio durante la floración de la especie *Ostreopsis* cf. *ovata*, donde se comparó la eficacia de la recolección de células de varios tamaños de malla de las pantallas de fibra de vidrio y los resultados indicaron una porosidad óptima de 1-3 mm (Jauzein, Fricke, Mangialajo, & Lemée, 2016). Con respecto al contexto de generar datos comparables se ha desarrollado el método de dinoflagelado bentónico integrado o por su siglas en inglés (BEDI), el cual no representa riesgos destructivos para la estimación de abundancias de dinoflagelados bentónicos. Este método consiste en la resuspensión mecánica de las células de dinoflagelados que permiten la cuantificación, en el caso de la especie *Ostreopsis*, las valoraciones realizadas son independientes de la especie de macroalgas, del hábitat dominante y además permiten la comparación de floraciones bentónica a grandes escalas espaciales y temporales, este método ya ha sido aplicado en varias playas del mediterráneo (Mangialajo, y otros, 2017).

Estos dinoflagelados habitan en aguas poco profundas, donde crecen adheridas al sustrato, encima de las macroalgas (Carnicer et al. 2016), como fue el caso de la especie hallada en el presente estudio (*Ostreopsis* sp.) que fue encontrada habitando encima de las macroalgas marinas *Padina* sp y *Coralina* sp de las cuales no mostró preferencia; además, estos microorganismos pueden desarrollarse en la columna de agua lo cual se encuentra correlacionado con el número de células existentes en los macrófitos, también puede ser como parte de su ciclo de vida (Bravo, Casabianca, Vila, & Penna, 2012). Para Mohammad et al., (2016), estos dinoflagelados, al encontrarse en la columna de agua presentan gran peligrosidad porque pueden entrar en contacto con bañistas causando diversos problemas en su salud. La presencia de *Ostreopsis* se ha detectado en varias playas del mar Mediterráneo, que como ya se dijo anteriormente viene acompañado de síntomas respiratorios (rinorrea, irritación nasal, dolor faríngeo, etc), dermatitis, dolor de cabeza, fiebre y/o conjuntivitis en bañistas expuestos durante algunas horas con el agua de mar que contenía estos microorganismos (Vila et al., 2016). Además de causar

problemas en la salud por contacto directo, también puede llegar al ser humano a través de la cadena trófica, ya que se biocumulan en el tejido de los peces o cangrejos (Vila, Garcés, & Masó, 2001). Uno de los estudios más relevantes, logró determinar que la especie *Ostreopsis siamensis* era causante de clupeotoxismo fue el de (Onuma et al., 1999) basado en la muerte de una mujer al consumir una sardina en Madagascar, la cual según un análisis permitió identificar la palitoxina en los restos de la sardina. Posteriormente, se realizaron análisis microscópicos de las agallas y del esófago del pescado, el cual contenía una gran cantidad de sedimentos lo que indicaba que posiblemente se había alimentado del fondo marino obteniendo de allí la toxina. Además, el brote de *Ostreopsis* en blooms puede causar afectaciones negativas en el ecosistema marino, causando mortandad en peces, y afectando a organismos bentónicos como el erizo de mar generándole daños en la capacidad reproductiva, viéndose afectada la abundancia de la misma (Migliaccio, y otros, 2016). También generaría pérdidas económicas debido a la poca afluencia de turismo por la aparición de las HAB's (Berdalet, y otros, 2017).

CONCLUSIONES

- En los análisis realizados se encontró presencia de *Ostreopsis* y *Prorocentrum*, este último en abundancias relativamente bajas. El género *Ostreopsis* según las medidas que presentó, probablemente corresponda a la especie *Ostreopsis* cf. *Ovata* por sus características morfológicas y de tamaño.
- Las abundancias presentadas del género *Ostreopsis* se presentaron bajas, esto puede deberse a que la zona no es un lugar óptimo para el floramiento de este género, por lo que podría descartarse el riesgo por intoxicación de palitoxinas en organismos bentónicos, como el pulpo y pepinos de mar, las cuales son especies consumidas en el lugar de estudio.
- No se encontraron diferencias significativas en la abundancia de *Ostreopsis* sp. con respecto a las dos macroalgas estudiadas, pero sí diferencia en las fechas, como lo fue en el mes de diciembre el cual presentó mayor cantidad de especies.

RECOMENDACIONES

- Realizar monitoreos periódicos, en las costas ecuatorianas donde se lleve un registro de especies de microalgas epibentónicas que puedan resultar nocivas o tóxicas para el ser humano y el ecosistema marino en el que se desarrollen.
- Estandarizar una metodología en la que se pueda realizar la comparación de las muestras entre los estudios, el método que sería implementado debería adaptarse a las condiciones de habitat y de la complejidad estructural de las microalgas, además de ser compatible al sustrato en el que estas especies se desarrollan (arena, rocas, macroalgas, coral, entre otros) y así poder conseguir un procedimiento de muestreo exitoso.
- Se deben realizar más investigaciones sobre la caracterización de microalgas epibentónicas potencialmente tóxicas, alrededor de las costas ecuatoriana, considerando además los factores ambientales presentes en cada lugar, para así poder saber si estos influyen en la toxicidad de estas especies. Las estaciones de muestreo que se seleccionarían serían en áreas de mayor influencia antrópica, como las costas de Esmeraldas, las cuales también reciben diariamente buques los cuales contienen aguas de lastre que según estudios también son dispersantes de especies de microalgas tóxicas. Estos muestreos podrían realizarse a lo largo de todo el año 1 vez al mes.

REFERENCIAS

- Abarzúa, M., Basualto, S., & Urrutia, H. (1995). Relación entre la abundancia y biomasa de fitoplancton y bacterioplancton heterotrófico en aguas superficiales del Golfo de Arauco, Chile. *Investigaciones Marinas*, 23, 67-74.
- Accoroni, S., Romagnoli, T., Penna, A., Capellacci, S., Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., . . . Totti, C. (2016). *Ostreopsis Fattorussoi* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic toxic *Ostreopsis* species from the eastern Mediterranean sea. *Phycological Society of America*(52), 1064–1084. doi:10.1111/jpy.12464
- Aguilar, A., Okolodkov, Y., Merino, F., Osorio, I., & Herrera, J. (2011). Variación espacial de dinoflagelados bentónicos/epifíticos en aguas costeras del norte de Yucatán (agosto de 2011). 147-160. doi:978-607-7887-71-3
- Al-Harbi, S. (2017). Epiphytic Microalgal Dynamics and Species Composition on Brown Seaweeds (Phaeophyceae) on the Northern Coast of Jeddah, Saudi Arabia. *Journal Oceanography and Marine Research*, 5(1), 1-9.
- Aligizaki, K., Katikou, P., Nikolaidis, G., & Panou, A. (2008). First episode of shellfish contamination by palytoxin-like compounds from *Ostreopsis* species (Aegean Sea, Greece). *Toxicon*, 51(3), 418-427. doi:https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.10.016
- Arencibia, G., Mancera, J., & Gavio, B. (2013). Floraciones algales nocivas, intoxicación por microalgas e impactos en el desarrollo regional: El caso de San Andrés Isla, Caribe Colombiano. Recuperado el 16 de Mayo de 2017, de bdigital: <http://www.bdigital.unal.edu.co/38477/1/41328-186496-1-PB.pdf>
- Berdalet, E., Tester, P., Chinain, M., Fraga, S., Lemée, R., Litaker, W., . . . Zingone, A. (2017). Harmful Algal Blooms in Benthic Systems: Recent progress and future research. *Oceanography*, 30(1), 36-45. doi: <https://doi.org/10.5670/oceanog.2017.108>
- Biré, R., Trotureau, S., Lemée, R., Delpont, C., Chabot, B., Aumond, Y., & Krys, S. (2013). Occurrence of palytoxins in marine organisms from different trophic levels of the French Mediterranean coast harvested in 2009. *Harmful Algae*, 28, 10-22.

- Boltovkoy, A. (1995). *Taxonomía y morfología de los dinoflagelados: Método de trabajo*. La Plata.
- Bossano, M. (2015). Propuesta de Ordenamiento Territorial Ecológico en el recinto Estero de Plátano utilizando técnicas de geo-información. Tesis de grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Esmeraldas, Esmeraldas.
- Bravo, I., Casabianca, S., Vila, M., & Penna, A. (2012). Life cycle stages of the benthic palytoxin-producing dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae). *Hamfurl Algae*, 18, 24-34. doi:10.1016/j.hal.2012.04.001
- Cailaud, A., Canete, E., Fraga, S., Mallat, E., & Diógene, J. (2008). Toxicidad de la dinoflagelada *Gambierdiscus* sp. aislada de las Islas Canarias. *Avances y Tendencias en fitoplancton Tóxico y Biotoxinas* (págs. 303-309). Cartagena: Universidad Politécnica de Cartagena.
- Carnicer, O. (2014). Spatio-temporal distribution, physiological characterization and toxicity of the marine dinoflagellate *Ostreopsis* (Schmidt) from a temperate área, the Ebre Delta. Phylogenetic variability in comparison with a tropical área, Reunión Island. Tesis doctoral, Universidad de Barcelona, Barcelona.
- Carnicer, O., García, M., Andree, K., Diogene, J., & Fernández, M. (2016). First evidence of *Ostreopsis* cf. *ovata* in the eastern tropical Pacific Ocean, Ecuadorian coast. *Botanica Marina*, 59(4), 267-274.
- Carnicer, O., Guallar, C., Andree, K., Diogène, J., & Fernández-, M. (2015). *Ostreopsis* cf. *ovata* dynamics in the NW Mediterranean Sea in relation to biotic and abiotic factors. *Environmental Research*, 143, 89-99. doi:10.1016/j.envres.2015.08.023
- Casabianca, S., Casabianca, A., Riobó, P., Franco, J. M., Vila, M., & Penna, A. (2013). Quantification of the Toxic Dinoflagellate *Ostreopsis* spp. by qPCR Assay in Marine Aerosol. *Environ. Sci. Technol*, 8(47), 3788–3795. doi:10.1021/es305018s
- Celis, J. (2013). Evaluación del efecto de las intoxicaciones alimentarias de origen marino sobre el turismo y la salud pública en la isla de San Andrés. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, San Andrés Isla. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/49694/1/evaluaciondelefectodelasintoxicaciones>

alimentariasdeorigenmarinosobreelturismoymasaludpublicaenlaisladesanandres.pdf

- Celis, J., & Mancera, J. (2015). Análisis histórico de la incidencia de ciguatera en las islas del caribe durante 31 años: 1980-2010. *Bol. Invest. Mar. Cost*, 44(1), 7-32.
- Comisión Oceanográfica Intergubernamental. (2003). *Sexto Taller Regional de Planificación Científica sobre Floraciones de Algas Nocivas en Sudamérica*. Guayaquil.
- David, H., Laza, A., Miguel, I., & Orive, E. (2013). *Ostreopsis cf. siamensis* and *Ostreopsis cf. ovata* from the Atlantic Iberian Peninsula: Morphological and phylogenetic characterization. *Harmful Algae*, 30, 44-55.
- Dominguez, H., Fernández, J., Norte, M., Franco, J., Riobo, P., Gutierrez, F., & Souto, M. (2008). Estudio de ostreocinas en cultivos de *Ostreopsis ovata*. *Avances y Tendencias en Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas* (págs. 247-251). Cartagena: Universidad Politécnica de Cartagena.
- EDUCA. (26 de Septiembre de 2011). *Bentos, necton y plancton*. Obtenido de Si-educa.net: <http://www.si-educa.net/basico/ficha311.html>
- EHESP. (2009). Mise en place d'un protocole de surveillance et d'intervention pour prévenir l'apparition de cas humains liés á la présence d'*Ostreopsis*. Francia.
- Fraga, S., Rodríguez, F., Caillaud, A., Diogene, J., Raho, N., & Zapata, M. (2011). *Gambierdiscus excentricus* sp. nov. (Dinophyceae), a benthic toxic dinoflagellate from the Canary Islands (NE Atlantic Ocean). *Harmful Algae*, 11, 10-22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.06.013>
- Gámez, J., & Padilla, A. (2012). Intervención en salud pública relacionada con la proliferación de microalgas tóxicas en una playa de Mijas (Málaga; España). *Observatorio Medioambiental*, 15, 163-173.
- García, M., & Peteiro, c. (2015). Explotación de las macroalgas marinas. *Revista Ambienta*, 116-132.
- Gilabert, J. (2007). Avances y Tendencias en Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas. *Actas de la IX Reunión Ibérica sobre Fitoplancton tóxico y Biotoxinas*, (págs. 1-330). Cartagena.

- Gilabert, J., Gómez, E., Hernández, A., Herrera, M., Tudela, J., García, M., & Gutierrez, C. (2007). Seguimiento y plan de vigilancia de fitoplancton tóxico en las costas de Águilas (Murcia) en verano de 2006. *Avances y Tendencias en Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas* (págs. 47-57). Cartagena: Universidad Politecnica de Cartagena.
- Gómez, L. (2007). Microalgas: Aspectos Ecológicos y Biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 19(2), 3-20.
- Gómez, L., Fernández, R., Jover, A., & Delgado, L. (2012). Variación espacial de la composición de microalgas epífitas de *Ulva* spp. (Chlorophyta: Ulvaceae) en la Bahía de Santiago de Cuba. *CICMAR Océánides*, 27(1), 1-9.
- Guerra, M. (2011). *Humus de lombriz Eisenia foetida para cultivar dos microalgas marinas como alimento de larvas de camarón*. Tesis de maestría, Universidad de la Habana, La Habana. doi:<http://www.oceandocs.org/handle/1834/4231>
- Hernández, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173.
- Hernández, D., & Almazán, A. (2004). Especies de dinoflagelados del género *Gambierdiscus* (Dinophyceae) del Mar Caribe mexicano. *Revista de Biología Tropical*, 52(1), 77-87.
- Herrera, A., Sierra, A., & Hernández, N. (2008). Floraciones Algales Nocivas: Perspectivas y Estrategias Biotecnológicas Para su Detección. *Bio Tecnología*, 2(1), 23-40.
- IMARPE. (2016). *Floraciones algales nocivas (FAN)*. Obtenido de Instituto del mar del Perú:
http://www.imarpe.pe/imarpe/index.php?id_seccion=I0183000000000000000000
0
- Instituto Nacional de Pesca. (2015). Plan Nacional de Control para el ofrecimiento de garantías oficiales respecto a la exportación de productos pesqueros y acuícolas de la República del Ecuador. Ecuador.
- Jauzein, C., Fricke, A., Magialajo, L., & Lemée, R. (2016). Sampling of *Ostreopsis* cf. *ovata* using artificial substrates: Optimization of methods for the monitoring of

- benthic harmful algal blooms. *Marine Pollution Bulletin*, 1-5. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.047>
- Jauzein, C., Fricke, A., Mangialajo, L., & Lemée, R. (2016). Sampling of *Ostreopsis cf. ovata* using artificial substrates: Optimization of methods for the monitoring of benthic harmful algal blooms. *Marine Pollution Bulletin*, 1-5. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.047>
- Mancera, J., Montalvo, M., & Gavio, B. (2014). Dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a material orgánico flotante (drift) en San Andrés Isla, reserva internacional de la biosfera - seaflower. *Revista Caldasia*, 36(1), 139-156.
- Mangialajo, L., Fricke, A., Perez, G., Catania, D., Jauzeina, C., & Lemee, R. (2017). Benthic Dinoflagellate Integrator (BEDI): A new method for the quantification of Benthic Harmful Algal Blooms. *Harmful Algae*, 64, 1-10. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2017.03.002>
- Marín, I., & Reguera, B. (2011). *Dinoflagelados tóxicos marinos: aspectos ecológicos, sanitarios y filogenéticos*. Obtenido de Semicrobiología: <http://www.semicrobiologia.org/protistologia/files/SEM%20Dinoflagelados.pdf>
- Migliaccio, O., Castellano, I., Cioccio, D. D., Tedeschi, G., Negri, A., Cirino, P., . . . Palumbo, A. (2016). Subtle reproductive impairment through nitric oxide-mediated mechanisms in sea urchins from an area affected by harmful algal blooms. *Nature Publishing Group*, 1-14. doi:10.1038/srep26086
- Mohammad, N., Al-Has, A., Saad, S., & Aung, T. (2016). Comparison on the Cell Abundance of Benthic Dinoflagellates in Macrophytes and Water Column Collected from Open Coastal Waters and Semi-Enclosed Lagoon. *Sains Malaysiana*, 45(4), 595-599.
- Moreira, Á. (2010). *Ostreopsis ovata* FUKUYO Y *O. siamensis* SCHMIDT, dos nuevos registros de dinoflagelados bentónicos tóxicos para Cuba. *Rev. Invest Mar*, 31(2), 96-100.
- Navarro, G., Díaz, J., Troccoli, L., & Subero, S. (2014). Dinoflagelados epibentónicos presente en diferentes sustratos en la bahía turpialito, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela*, 53(2), 161-170.

- Oliva, M., Godínez, J., & Zuñiga, C. (2014). Biodiversidad del fitoplancton de aguas continentales en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 54-61. doi:10.7550/rmb.32706
- OMS, & FAO. (2009). *Código de prácticas para el pesacado y los productos pesqueros*. Roma: FAO.
- Onuma, Y., Satake, M., Ukena, T., & Yasumoto, T. (1999). Identification of putative palytoxin as the cause of clupeotoxism. *Toxicon*, 37, 55-95. doi:10.1016/S0041-0101(98)00133-0
- Oscanoa, A., Ynga, G., Chang, I., & Aguilar, C. (2015). Impacto del CO₂ sobre la densidad celular en seis cepas de microalgas marinas. *Revista ION*, 28(2), 23-32.
- Peraza, R., & Moreira, Á. (2012). Composición y abundancia de dinoflagelados epibentónicos tecados potencialmente tóxicos de la Ensenada Guajimico, región Centro-Sur de Cuba. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 29(1), 59-66.
- Reguera, B., Alonso, R., Moreira, A., & Méndez, S. (2011). *Guía para el diseño y puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas*. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission. Obtenido de <http://unesdoc.unesco.org/images/0021/002145/214510s.pdf>
- Rodríguez, C., & Clerck, O. (2009). *Leptofaucea coralligena* (Faucheaceae, Rhodophyta), a new species from the Mediterranean Sea. *European Journal of Phycology*, 44(1), 107-121.
- Sanmartín, L. (2012). *Caracterización del fitoplancton del perfil costero del cantón Machala en las zonas Chivería Huaylá Puerto Bolívar El Coco Puerto Grande*. Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala, Machala. Obtenido de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1915/1/CD644_NO_DISPONIBLE.pdf
- Sar, E., Ferrario, M., & Reguera, B. (2002). *Floraciones algales nocivas en el cono sur americano*. Madrid: Instituto Español Oceanográfico.
- Suzuki, T., Watanabe, R., Uchida, H., Matsushima, R., Nagai, H., Yasumoto, T., . . . Adachi, M. (2012). LC-MS/MS analysis of novel ovatoxin isomers in several

- Ostreopsis strains collected in Japan. *Harmful Algae*, 20, 81-91.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.08.002>
- Tapia, M. (2013). Composición y distribución del fitoplancton durante la prospección sísmica en la costa ecuatoriana, diciembre de 2008. *Acta Oceanográfica del Pacífico*, 18, págs. 75-89. Quito.
- Tapia, M., & Naranjo, C. (2011). Aspectos oceanográficos del plancton y su relación con el frente ecuatorial, durante septiembre de 2011. *Acta Oceanográfica del Pacífico*, 17, págs. 67-91. Quito.
- Tichadou, L., Glaizal, M., Armengaud, A., Grosseil, H., Lemée, R., Kantin, R., . . . Haro, L. d. (2010). Health impact of unicellular algae of the *Ostreopsis* genus blooms in the Mediterranean Sea: experience of the French Mediterranean coast surveillance network from 2006 to 2009. *Clinical Toxicology*, 48(8), 839-844.
doi:10.3109/15563650.2010.513687
- Vila, M., Abós, R., Isern, J., Álvarez, J., & Berdalet, E. (2016). Establishing the link between *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms and human health impacts using ecology and epidemiology. *Scientia Marina* 80S1, 107-115.
doi:<http://dx.doi.org/10.3989/scimar.04395.08A>
- Vila, M., Garcés, E., & Masó, M. (2001). Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquatic Microbial Ecology*, 26, 51-60.
- Villalobos, R. (2 de Junio de 2015). *Ecosistemas marinos en Canarias*. Obtenido de Blog Biología y Geología: <http://biologiayctma.com/blogs/4eso2/author/raulv/>
- Wilson, J. (2006). The Role of benthic microalgae in the ecology of lake Illawarra. *Centre for Natural Resources*, 21(2), 94-104.
- Zapperi, G. (2015). *Estructura y funciones ecológicas de las comunidades bentónicas en planicies de marea de la zona interna del estuario de Bahía Blanca*. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. Obtenido de <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/2427>

ANEXOS

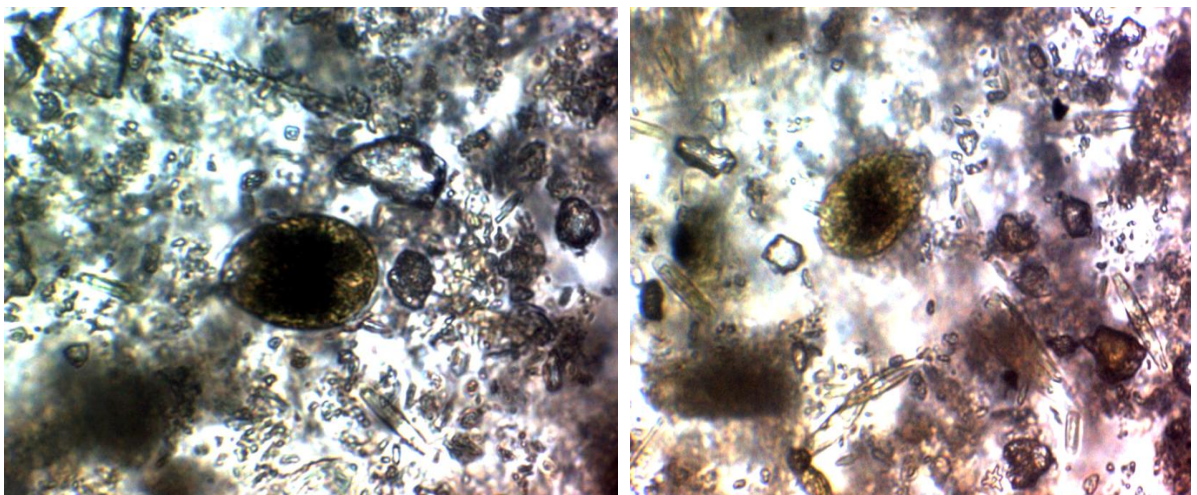
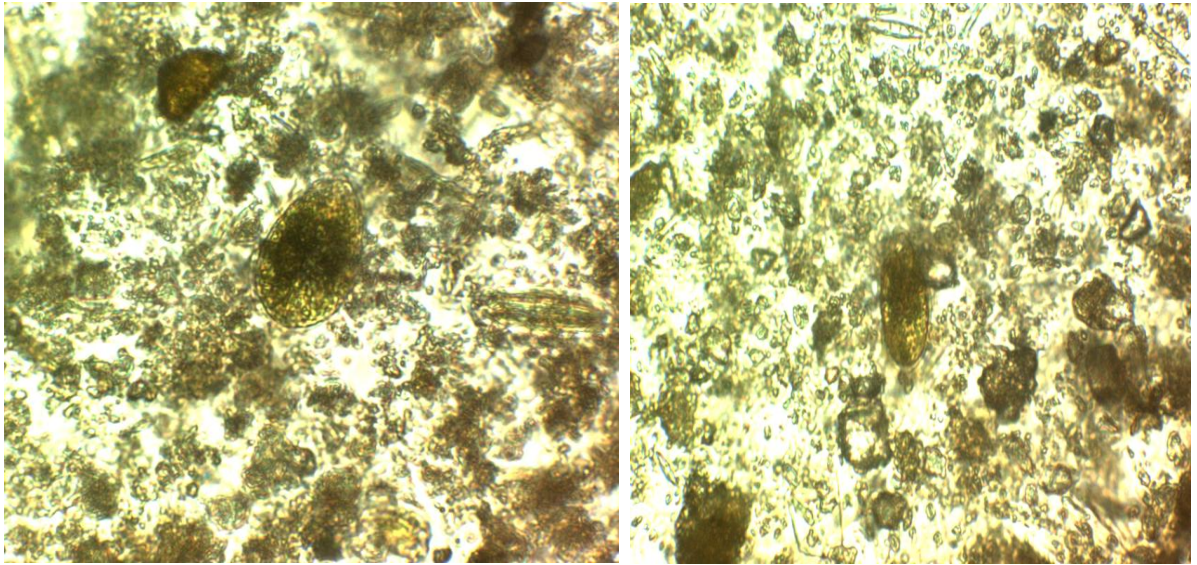


Figura 1: Género encontrado (Ostreopsis)

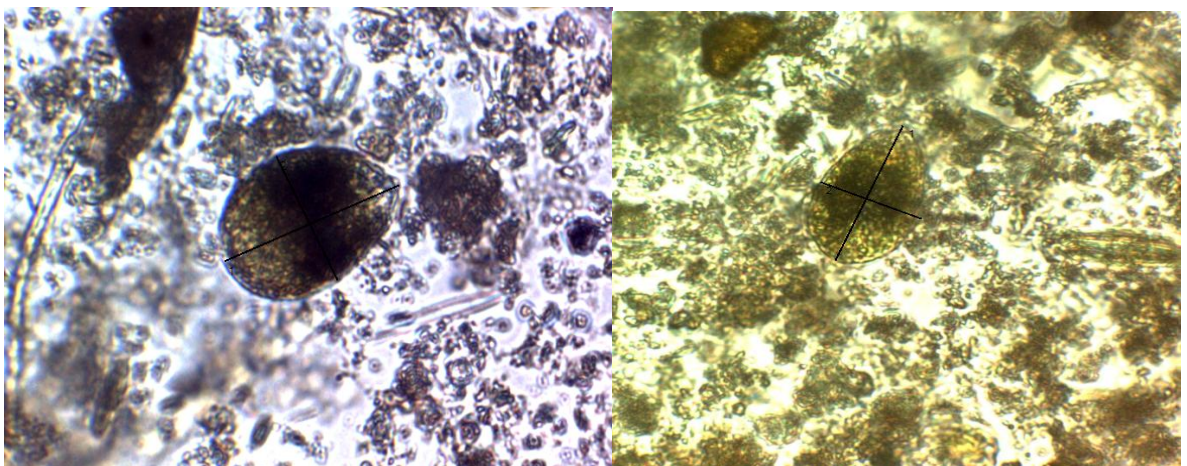


Figura 2: Medición de células



Figura 3: Sitio de muestreo



Figura 4: Toma de muestra



Figura 5. Filtrado del agua recolectada



Figura 6. Aplicación de lugol a las muestras



Figura 7. Muestras recolectadas y colocadas en un cooler hasta llegar al laboratorio y analizarlas.