



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

SEDE
ESMERALDAS

CARRERA DE GESTIÓN AMBIENTAL

TESIS DE GRADO

PRESENCIA DE MICROALGAS BENTÓNICAS POTENCIALMENTE TÓXICAS EN LA COSTA DEL ECUADOR.

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

AUTORA

ANA CAMILA GARZÓN CÁRDENAS

ASESORA

Ph.D. OLGA CARNICER CASTAÑO

ESMERALDAS, AGOSTO 2019

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

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

Lector 1

Ph. D. Jorge Luis Velasco Vargas

Lector 2

Ph. D. Ignacio Iñaqui Carazo

Mgt. Karla Solís Charcopa

Coordinadora de la Carrera de Gestión Ambiental

Ph.D. Olga Carnicer Castaño

Directora de Tesis

Esmeraldas, 12 de Agosto de 2019.

AUTORÍA

Yo, Ana Camila Garzón Cárdenas, 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.

Ana Camila Garzón Cárdenas

C.I. 172481023-7

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a Dios por haberme acompañado y guiado durante mi carrera, por ser mi sustento y fortaleza en momentos de debilidad y sobre todo por regalarme una vida llena de experiencias, aprendizaje y felicidad.

A mis padres Oscar y Julia, por ser los principales promotores de mis sueños, gracias a ellos por confiar y creer en mí cada día, gracias a mi madre por cada uno de sus consejos los cuales me guiaron en cada etapa de mi vida, por su infinito amor y dedicación, gracias a mi padre por siempre desear y anhelar lo mejor para mí y por ser mi mayor ejemplo de trabajo, humildad y fortaleza.

A mis hermanos Martín y Matías, por ser los regalos más lindos que la vida me dio, gracias Martín por ser mi compañero y amigo incondicional, por ser el motor que me anima a cumplir cada una de mis metas, gracias porque desde el cielo guías mi camino, siempre te llevo en mi corazón MI ETERNO CAMPEÓN, gracias al bebe de la casa Mati, por darme tanta felicidad y paz, gracias porque con un beso alegras mis días y con un abrazo sanas mis heridas.

A mi novio y compañero de vida Pablo, por brindarme su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos, por su paciencia, compromiso, entendimiento y sobre todo por su amor.

A mi tutora Ph.D. Olga Carnicer, por todo el conocimiento brindado, por su paciencia y tiempo en cada etapa de esta investigación, por motivarme, confiar y creer en mis capacidades académicas y sobre todo por ser un ejemplo profesional y personal que me ha encaminado a crecer constantemente.

A mi profesor y amigo Ph.D. Jorge Velasco, por apoyarme desde mi llegada a la universidad, por creer en mis capacidades desde el primer momento, por exigirme más contantemente, por su don de gente, pero sobre todo gracias por su mano amiga brindada.

A mi profesor Ph.D. Ignacio Iñaqui Carazo, por sus enseñanzas en el desarrollo de un trabajo de investigación, por todo el apoyo brindado y por dedicarle tiempo a la revisión de mi tesis.

Al Ing. Klever Vera, quien ha sido un apoyo importante en este camino, gracias por sus consejos y por guiarme desde el principio hasta el final en esta etapa, sin duda un excelente profesional.

Al Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR), por realizar los análisis de nutrientes de los diferentes puntos de muestreo.

A la Universidad de Guayaquil y al conjunto de investigadores que lo conforman, en especial a las Dras. Gladis Torres y Maritza Cárdenas por todo su apoyo y colaboración durante el muestreo realizado en Ballenita/ Santa Elena.

A todos los profesores de la Escuela de Gestión Ambiental de la PUCE-ESMERALDAS, que durante toda mi carrera universitaria me guiaron a ser mejor persona, gracias por brindarme sus conocimientos, por compartirme vivencias únicas y enseñanzas magnificas, quiero expresarles mis más sinceros sentimientos de gratitud.

A mis compañeros y amigos, por formar parte de mi vida, por su apoyo, por sus risas y por su ánimo constante, sin duda mí tiempo en la universidad no hubiera sido lo mismo sin ustedes, por siempre los llevaré en mi corazón.

DEDICATORIA

A mi ángel Martín, por ser el principal motor de mi vida, porque desde el cielo has estado conmigo en cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, todo lo que hago es por ti y para ti mi eterno campeón.

A mi familia Oscar, Julia Y Matías, los pilares fundamentales de mi vida, mi alegría y vida antera, con mucho amor y cariño les dedico todo mi esfuerzo, en reconocimiento a todo el sacrificio que han hecho para que yo pueda culminar esta etapa, se merecen esto y mucho más.

A mi novio y compañero de vida Pablo, porque desde que apareciste mi vida entera ha cambiado, por tu amor incondicional, por cuidarme, por ayudarme a ser mejor cada día, por eso y mucho más te dedico todo mi esfuerzo el cual es un paso más al futuro que estamos construyendo juntos.

ÍNDICE

AUTORÍA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	vii
ABREVIATURAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCION	1
1.1 Planteamiento del problema:	3
1.2 Justificación:	3
1.3 Objetivos:	5
2. CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Bases teórico-científicas.....	6
2.1.1 Definición y características	6
2.1.2 Toxicidad de microalgas bentónicas	9
2.1.3 Condiciones climáticas del Ecuador	14
2.2 Antecedentes.....	15
2.3 Marco legal.....	19
3. CAPÍTULO II: MATERIAL Y MÉTODOS	22
3.1 Área de estudio	22
3.2 Recolección de muestras	25
3.3 Análisis Físicoquímico del Agua.....	25
3.4 Análisis de Laboratorio	26
3.5 Identificación y cuantificación de dinoflagelados y diatomeas bentónicas	26

4.	CAPITULO III: RESULTADOS.....	29
4.1	Parámetros fisicoquímicos	29
4.2	Nutrientes	30
4.3	Composición de dinoflagelados potencialmente tóxicos	33
4.4	Abundancia de dinoflagelados potencialmente tóxicos.....	33
4.5	Tamaño celular del género <i>Ostreopsis</i> en los puntos de muestreo.....	34
5.	CAPITULO IV: DISCUSIÓN	37
6.	CONCLUSIONES	43
7.	RECOMENDACIONES	45
	REFERENCIAS	47

ABREVIATURAS

°C: Grados Celsius

A: Ancho celular

ASP: Envenenamiento amnésico por mariscos

cel/L: célula por litros

CE: Consejo Europeo

DV: Diámetro dorsoventral de la célula

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

FAN: Floraciones algales nocivas

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

INOCAR: Instituto oceanográfico de la Armada

mg/L: microgramo por litro

ml: miligramo

OTX: Ostreotoxina

OVTX: Ovatoxina

PPC: Envenenamiento ciguatérico

pH: grado de acidez o alcalinidad de una sustancia

PLTXs: Palitoxina

ppm: partes por millón (unidad de medida de salinidad en el agua).

PSP: Envenenamiento paralítico por mariscos

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano

TULSMA: Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente

µg/kg: microgramos por kilogramos

µm: micrómetros

VDM: Intoxicaciones diarreicas

YTX: Yesotoxina

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dibujos lineales de las nueve especies de <i>Ostreopsis</i>	11
Figura 2. Área de Estudio: Ubicación de las Estaciones y Puntos de Muestreo.	24
Figura 3. Diatomeas pennales y centrales	27
Figura 4. Abundancia de dinoflagelados tóxicos.....	34
Figura 5. Tamaño celular del genero <i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i>	35
Figura 6. Análisis HSD Tukey tamaño <i>Ostreopsis</i> cf <i>ovata</i>	35
Figura 7. Tamaño celular del género <i>Ostreopsis</i> cf. <i>lenticularis</i>	36
Figura 8. Análisis HSD Tukey tamaño <i>Ostreopsis</i> cf <i>lenticularis</i>	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros físico-químicos del agua de mar en las estaciones de muestreo ...	29
Tabla 2. Nutrientes del agua de mar en las estaciones de muestreo	30
Tabla 3. Presentación de la comunidad.....	32

RESUMEN

Las microalgas bentónicas son organismos con una distribución cosmopolita y con un amplio rango de adaptación a diferentes condiciones ambientales, que crecen en macrófitos y se adhieren a sedimentos arenosos y rocosos. Los dinoflagelados representan un grupo importante de este tipo de microalgas, en el que existen especies bentónicas peligrosas como el género *Ostreopsis*, siendo abundantes en climas tropicales. Éstas pueden producir toxinas que afectan a la salud y al ecosistema marino. El presente estudio tiene como objetivo principal evaluar el riesgo ambiental respecto a la presencia de microalgas bentónicas potencialmente tóxicas en las costas del Ecuador.

Para ello se realizó el primer estudio de las comunidades de dinoflagelados bentónicos a lo largo de la costa del Ecuador. Durante el mes de agosto 2018, se efectuaron muestreos de macrófitos en ocho puntos a lo largo de la costa ecuatoriana, desde Ballenita (Provincia de Santa Elena) hasta Bocana de Ostiones (provincia de Esmeraldas) para evaluar la comunidad bentónica asociada. Respecto a los resultados se detectó la presencia de 2 especies del género *Ostreopsis* localizadas en todos los puntos menos en Canoa y Ballenita. En Ayangué se registraron las máximas abundancias, superiores a 1×10^4 cel. g macrófito⁻¹ seguida de Estero de Plátano. A su vez, se determinó la presencia por primera vez de *Ostreopsis* cf. *lenticularis* en Bocana de Ostiones y Salango. Respecto a su morfología y tamaño las especies halladas presentaron similitud en la forma (ovooidal-claviforme); las *Ostreopsis* cf. *lenticularis* poseen un tamaño $DV = 124,08 \pm 14,50 \mu\text{m}$ y $A = 100,75 \pm 2,20 \mu\text{m}$, más grande que las *Ostreopsis* cf. *ovata* $DV 70,55 \pm 3,37 \mu\text{m}$ y $A = 50,47 \pm 2,73 \mu\text{m}$. La amplia distribución, posiblemente sea influenciado por aspectos geográficos, climáticos y oceanográficos, probablemente dependen de la cantidad de nutrientes presentes en el agua o de las condiciones ambientales como la temperatura, salinidad; y los flujos de agua, incluso no se puede afirmar la toxicidad de la *Ostreopsis* cf. *ovata* hallada. Las células de menor tamaño pueden ser células vegetativas que se reproducen más rápido derivada del aumento en la división celular. La presencia y altas abundancias de estas especies evidencian un potencial riesgo, que podría causar proliferaciones masivas por cambios en las condiciones ambientales, lo cual puede tener consecuencias negativas a la salud pública, económica y ambiental. Es por esto que sería necesaria la

implementación de un monitoreo periódico en zonas bentónicas que no se ha considerado hasta la fecha en el país. A su vez, se recomienda el estudio toxicológico y genético de las cepas para futuros estudios.

ABSTRACT

The epi-benthic microalgae are organisms that grow in macrophytes and adhere to sandy and rocky sediments. The dinoflagellates represent an important group of this type of microalgae, in which there are dangerous benthic species such as the genus *Ostreopsis*, being abundant in tropical climates. These can produce toxins that affect health and the marine ecosystem. The main objective of this study is to evaluate the environmental risk with respect to the presence of toxic benthic microalgae in the coasts of Ecuador. To this end, the first study of the benthic dinoflagellate communities along the coast of Ecuador was carried out. During the month of August 2018, macrophyte samplings were conducted at eight points along the Ecuadorian coast, from Ballenita (Province of Santa Elena) to Bocana de Ostiones (province of Esmeraldas) to evaluate the associated benthic phytoplankton community. Regarding the results, the presence of 2 species of the genus *Ostreopsis* located in all the points except Canoa and Ballenita was detected. In Ayangué the maximum abundances were recorded, superior to 1×10^4 cel. g macrophyte⁻¹ followed by Estero de Plátano. In turn, the presence of *Ostreopsis* cf. *lenticularis* was determined for the first time in Bocana de Ostiones and Salango. Regarding its morphology and size, the species found had similarity in the shape (ovoidal-claviform); the *Ostreopsis* cf. *lenticularis* have a size $DV = 124.08 \pm 14.50 \mu\text{m}$ and $A = 100.75 \pm 2.20 \mu\text{m}$, larger than the *Ostreopsis* cf. *ovata* $DV 70.55 \pm 3.37 \mu\text{m}$ and $A = 50.47 \pm 2.73 \mu\text{m}$. The wide distribution, possibly influenced by geographical, climatic and oceanographic aspects, probably depends on environmental conditions such as temperature, salinity; and the water flows, even it cannot affirm the toxicity of the *Ostreopsis* cf. *ovata* found. The smaller cells may be vegetative cells that reproduce more rapidly derived from increased cell division. The presence and high abundances of these species show a potential risk, which could cause massive proliferation due to changes in environmental conditions. It would be necessary to implement periodic monitoring in benthic zones that has not been considered in the country to date. In turn, the toxicological and genetic study of the strains is recommended for future studies.

1. INTRODUCCION

Presentación del tema de investigación:

Las algas bentónicas son organismos eucariotas, fotosintéticos que presentan una enorme variedad de formas (1). Hay algunas en forma de láminas, y también con forma de filamentos y ramificadas. Existen algunas muy pequeñas, que son apenas perceptibles y otras que pueden llegar a medir más de cincuenta metros. Es muy común verlas pegadas a las formaciones rocosas o enterradas en la arena o en el fango (1).

Sus nutrientes no los extraen del sustrato al que están adheridas, sino que lo hacen de manera directa del medio que las baña. Se alimentan a través de la fotosíntesis, de los rayos solares y del agua del mar, y como resultado de este proceso, estas algas producen oxígeno (2).

Dentro de la comunidad bentónica existen las plantas epífitas que son aquellas que se afincan sobre otras que le sirven solo de sustentáculo. Más concretamente, existen microalgas bentónicas que son capaces de generar toxinas que pueden resultar muy dañinas y aunque no lleguen a alcanzar concentraciones celulares elevadas, pueden afectar no solo la vida marina sino también a la especie humana, representando un peligro ambiental y social (3). Los cambios ambientales como temperatura, salinidad y el acceso a nutrientes, pueden hacer que aumente el nivel de este tipo de microalgas, dando lugar a proliferaciones denominadas “blooms” o “florecimientos algales nocivos” (FAN) que a la larga tienen un efecto negativo en el ecosistema marino (4), además existen diversos factores que favorecen a la formación de los FAN, como son la eutrofización, transporte de aguas de lastre, descargas de aguas residuales y el cambio climático (3).

En los últimos años, los FAN'S han despertado el interés en el mundo, convirtiéndose en uno de los principales focos de la comunidad científica, debido a los grandes impactos que ocasionan en los diferentes ecosistemas marinos, salud pública, turismo y economía (4). Los FAN'S se forman por una gran variedad de especies de microalgas, entre las que tenemos cianobacterias, diatomeas y los dinoflagelados que son el grupo

que destacan por sus diferentes efectos (3). Las diferentes toxinas de estos microorganismos afectan a la salud pública debido al consumo de moluscos, peces crustáceos y especialmente bivalvos que se han alimentado de microalgas tóxicas que pueden ser: diarreicas, paralizantes, amnésicas.

Las microalgas bentónicas también son conocidas por su producción de toxinas como las *ciguatoxinas* (por especies del género *Gambierdiscus*) o *palitoxinas* (por especies del género *Ostreopsis*), que pueden provocar hasta la muerte (3). En el Pacífico oriental están presentes estas especies de dinoflagelados (3). Una de las consecuencias del consumo de esta toxina por los peces es la ciguatera cuyo principal causante es el *Gambierdiscus toxicus*; cuando este género es ingerido por los peces se genera un proceso metabólico y al oxidarse la molécula ocasiona *ciguatoxinas*. Por lo que al consumir pescado contaminado con esta toxina ocasiona problemas gastrointestinales y neurotóxicos (3).

Las *Ostreopsis* viven asociadas a corales, sobre el sedimento y macroalgas. Son comunes en aguas tropicales y subtropicales del Pacífico, Caribe e Índico, asociados muchas veces con episodios de ciguatera. La creciente expansión en aguas del Atlántico oriental y Mediterráneo la ha convertido en otro foco de atención en Europa. Esta microalga ha estado también asociada con el síndrome del *clupeotoxismo*, relacionado con el consumo de peces *planctívoros*, como sardinas, arenques y boquerones (pertenecientes a la familia *clupeidae*) (3). En respuesta a la gran problemática que representan las microalgas tóxicas, Europa ha implementado los reglamentos Reglamento (CE) N° 854/2004 y 2074/2005, en los que se establecen medidas de control y detección de biotoxinas en alimentos de consumo humano, por otro lado también indican los periodos de los diferentes programas de vigilancia en mercados y puntos de venta de productos marinos (5) (6).

Ecuador posee una costa muy extensa con diferencias climáticas, esto hace que se sitúe en una zona estratégica, influenciada por las corrientes del Niño y la de Humboldt que favorece la biodiversidad de las especies marinas por la formación de *upwellings* en sus costas con el consiguiente aumento de nutrientes (7). Ecuador no cuenta ni se rige a un

reglamento de control de monitoreo de proliferaciones de microalgas en sus costas. Si bien, el Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR) cuenta con un registro de la presencia de microalgas pelágicas a lo largo de la costa ecuatoriana (8). Sin embargo, las especies bentónicas no forman parte de este seguimiento, dejando en evidencia la falta de información y el posible impacto que suponen la presencia de estas especies. Es por ello que esta investigación tiene como objetivo, conocer si existe un riesgo para la salud pública y los ecosistemas marinos en las costas ecuatorianas debido a la presencia de dinoflagelados bentónicos tóxicos (7).

1.1 Planteamiento del problema:

¿Existe un riesgo para la salud pública y los ecosistemas marinos en las costas ecuatorianas debido a la presencia de dinoflagelados bentónicos tóxicos?

1.2 Justificación:

Alrededor del mundo, la comunidad científica ha puesto mucho énfasis en el estudio de las microalgas bentónicas tóxicas debido a su rápido esparcimiento y distribución, así como a los efectos nocivos que han generado en la salud pública y en diversos ecosistemas marinos (11). En los últimos años se ha proyectado que el cambio climático tendrá efectos sustanciales en la frecuencia y abundancia de FAN debido a la complejidad de los factores ambientales que pueden cambiar y sus efectos combinados en el crecimiento o hábitat de los FAN. Ejemplos de factores, además de la temperatura, que afectan los FAN pueden cambiar debido al calentamiento global, incluye la salinidad alterada derivada del aumento de la precipitación y la escorrentía, el incremento de la estratificación y los cambios en los regímenes de nutrientes y luz (9). Es por esto que es necesario un seguimiento de estos eventos a lo largo de la costa para evaluar su posible aumento o la presencia de nuevas especies antes no encontradas.

En el Ecuador se han evidenciado 131 eventos de mareas rojas a lo largo de sus costas en las últimas décadas (16), en el cual se incluyeron 26 eventos de mortalidad. Los

meses con mayores eventos fueron marzo abril, y mayo, coincidentes con la época cálida; aunque estos también se evidenciaron en todos los meses del año (10).

Sin embargo, con respecto a las microalgas bentónicas, solo existen tres estudios en Ecuador. El primero realizado por Yépez (2018) en la costa de Galápagos; los otros dos estudios elaborados en la provincia de Esmeraldas y Manabí por Carnicer et. al (2016) y Ramírez (2017), que contribuyen a una mejor comprensión de las condiciones que se desarrollan en relación a las microalgas bentónicas (1) (11) (2).

En estos estudios se encontró la presencia de géneros como *Ostreopsis*, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Amphidinium* y *Coolia*, con mayor abundancia de *Ostreopsis*, posiblemente derivada de aspectos geográficos y climáticos en la Reserva Marina Galápagos (1). En cambio, en la Reserva Marina de Galera San Francisco (RMGSF) se identificó al género *Ostreopsis* y, puntualmente, se detectó la presencia de *Prorocentrum* en ciertas muestras (12) (2); las bajas abundancias no representan un riesgo a la salud pública, esto puede deberse a que la zona no es un lugar óptimo para el floramiento (2). En el Estero de Plátano y Playa Mateo, identificó por primera vez la presencia de *Ostreopsis* cf. *ovata*, que no eran tóxicos (11).

Pese a los aportes que brindan, cabe mencionar que los dos últimos estudios fueron realizados en la zona norte del perfil costanero de Esmeraldas y Manabí, lo que constituye una extensión muy corta, en vista de esta situación, es necesario ampliar la zona de estudio hacia el sur, debido a que se conoce de la presencia de una mayor producción acuícola que podría ser afectada, además el INOCAR ha presentado informes respecto a la presencia de Mareas Rojas en ese área (2).

En función de lo antes mencionado, es necesario realizar una investigación más amplia que centre su interés en la extensión que comprende el perfil costanero de la parte norte y sur, debido a que no existen las mismas condiciones ambientales en todos los puntos, pudiendo determinar la fluctuación de abundancia de microalgas respecto a los parámetros ambientales y nutrientes. A través de esto se busca comprobar la presencia o

no de *Ostreopsis* y *Gambierdiscus*, si bien aún no existe evidencia de esta especie en la parte de Esmeraldas (11), se ha comprobado que se encuentra en Galápagos (1).

En este sentido, la realización de este estudio se enfoca en evaluar el riesgo ambiental por la presencia de microalgas bentónicas, lo cual resulta importante porque ayudará a ampliar los conocimientos respecto a las microalgas bentónicas presentes en el perfil costanero del Ecuador. Además, representa un aporte esencial al ámbito científico ya que el proyecto da continuidad a la línea de investigación de comunidades bentónicas propuesta por la Universidad Católica del Ecuador sede Esmeraldas.

1.3 Objetivos:

General:

- Evaluar el riesgo ambiental respecto a la presencia de microalgas bentónicas potencialmente tóxicas en la costa del Ecuador.

Específicos:

- Identificar y cuantificar los dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos en diferentes especies de macrófitos.
- Comparar el tamaño de la comunidad de microalgas bentónicas potencialmente tóxicas del género *Ostreopsis* en los diferentes puntos de muestreo..
- Comparar la comunidad de microalgas bentónicas potencialmente tóxicas en los diferentes puntos de muestreo.

2. CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teórico-científicas

2.1.1 Definición y características

Las microalgas se definen como organismos unicelulares eucariotas fotosintéticos, poseen características importantes para el medioambiente debido a que cuentan con la capacidad de transformar el CO₂ en un componente orgánico, además utiliza energía solar en la producción de biomasa en un porcentaje superior al de las plantas. Es decir, se constituyen en la principal base de la cadena trófica (13).

Se clasifican de diferente manera ya que se encuentran en casi todos los ambientes acuáticos como ríos, lagos y mares, incluso es posible encontrarlas en espacios terrestres en los que existen características ambientales extremas, esto es debido a que tienen la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales, por lo que cuentan con una distribución cosmopolita. Los estudios señalan la existencia de alrededor de 30000 especies de microalgas (13).

Las microalgas se caracterizan por su capacidad de fotosíntesis, reproducción, supervivencia y sobre todo producción de energía, su tamaño se ubica entre 5 – 50 µm aproximadamente (14).

Otra de las características es que tienen la capacidad de desarrollarse en ecosistemas pelágicos y bentónicos, el primero se relaciona a organismos que habitan a 200 metros de profundidad cerca de la corteza continental, golfos y océanos, en el que se encuentran fitoplancton o microalgas. Asimismo, en el ecosistema bentónico habitan diversas especies como corales, equinodermos, bivalvos, moluscos, pleuronectiformes ubicados en el fondo de mar, incluyendo algunos tipos de algas que son fácilmente arrastradas por las corrientes marinas, es decir, se encuentran a más de 200 metros de profundidad (15).

Por consiguiente, para desarrollarse en cualquier ecosistema del medio acuático debe disponer de nutrientes, intensidad de luz, temperatura, salinidad, predadores, oxígeno y dióxido de carbono, incluso de adaptan a temperaturas cercanas al punto de congelación (1). En el mar se pueden apreciar dos especies, fitoplanctónicas y bentónicas. La diferencia entre ambas especies radica en que las primeras son microalgas eucariotas, habitan cerca de la superficie marina, generan CO₂ atmosférico, la cual forma parte de la cadena alimenticia, mientras que las segundas son microalgas procariotas y eucariotas, viven a mayor profundidad, simbióticas, producen 50% de oxígeno y 50% del carbono (16) (2).

Las especies fitoplanctónicas se ubican en la cadena alimenticia de ecosistemas acuáticos, se desarrollan en temperaturas cálidas lo que incrementa la biodiversidad y fotosíntesis, dentro de este grupo se encuentran especies como diatomeas, clorofila, cianobacterias, dinoflagelados, etc. (16).

Las fitoplanctónicas habitan en suspensión en los diferentes estratos de la columna de agua a lo largo de la zona fótica, se constituyen como microalgas eucariotas que poseen un tamaño considerable, se alimentan de los nutrientes que se generan a raíz de distintos fenómenos que se producen en el océano. Cuando llegan a concentrarse en altas cantidades incluso provocan que la coloración del mar cambie. Se ubican sobre todo en espacios en los que se encuentran distintas áreas productivas relacionadas a la pesca (17).

Algunos estudios señalan la existencia de alrededor de 5000 especies de fitoplancton en el Mundo (18). En el grupo del fitoplancton marino de tipo cosmopolita se encuentran los dinoflagelados, estos son organismos unicelulares, poseen cortes longitudinales en forma de bastón, en el que el tamaño es 3-5 µm de largo y 0,8 µm diámetro, formado por bandas de fibra elemental con 5 nm de diámetro (18).

Sus poblaciones se distribuyen en función de los nutrientes la temperatura, salinidad y profundidad. Debido al cambio climático, las especies de dinoflagelados cambian su comportamiento en busca de adaptarse a las nuevas condiciones marítimas. Existe una

relación directa en los niveles de disturbancia y las condiciones atmosféricas, esto como resultado de procesos de sobreexplotación en procesos como la pesca y factores como la contaminación (19).

Sus características morfológicas y requerimientos nutritivos los hacen exitosos desde el punto de vista reproductivo y de crecimiento, en aguas tropicales, donde la estabilidad en la columna de agua es mayor y la concentración de nutrientes más baja. En cambio, los cortes finos transversales presentan una estructura en forma de arcos (20).

Por otra parte, **los ecosistemas bentónicos** se caracterizan por ser la base de las cadenas tróficas que viven y se fijan en el fondo de toda la superficie de los mares y océanos, además estos ecosistemas mantienen una alta productividad biológica debido a la presencia de aguas frías con un gran número de nutrientes, y a que, al encontrarse a menor profundidad, tiene mayor acceso a luz. Además, cumple funciones como alojar a distintos organismos que se desarrollan en ellas, constituyen ambientes en los crecen y se refugian diversos tipos de organismos, entre ellos las microalgas (21).

Las microalgas bentónicas forman ecosistemas integrados por diversos tipos de especies que habitan el fondo del océano. Los estudios demuestran que abarcan los niveles más elevados de productividad biológica marítima, alcanza profundidades aproximadas de hasta 100 metros, situación que les permite recibir la luz solar y la producción de nutrientes (1).

Las especies de microalgas bentónicas se definen como organismos macrobióticos presentes en las zonas costeras. Reciben el nombre de *perifiton* debido a que forman una especie de asociación de tipo simbiótico en distintos sustratos naturales, generalmente crecen en macrófitos debido a que estas proporcionan nutrientes y protección a las microalgas e incluso algunas especies segregan sustancias que resultan tóxicas ante depredadores, también viven en sedimentos arenosos o rocosos ya que cuentan con la consistencia adecuada para poder adherirse (2).

El grupo principal de microalgas bentónicas son los dinoflagelados, existen alrededor de 40 especies que son tóxicas, representando el 13% del total de especies nocivas presentes en el fitoplancton marino (22).

Las microalgas bentónicas tienen mayores posibilidades de crecimiento cuando confluyen elementos como la temperatura del agua, la intensidad de la luz, la salinidad del agua y la presencia de nutrientes como el fosfato o nitritos presentes en las zonas marítimas (2) (9). Al encontrarse en diversos ambientes y adaptarse a fuertes cambios de temperatura, pueden crecer y concentrarse en grandes cantidades, a las que se les denomina con el nombre de “mareas rojas”, haciendo que sus componentes se vuelvan tóxicos para algunas especies de los ambientes en los que habitan (23). Si bien son un aporte esencial para el equilibrio del océano su crecimiento desmedido puede derivar en el apareamiento **de Floraciones Algales Nocivas FAN**, representan un riesgo para la salud de los seres humanos (24); el aumento puede ocasionarse por desechos industriales, agrícolas, domésticos, etc., (25). La alta concentración de algas bentónicas en los océanos puede derivar en afectaciones que altera la composición marítima (26). Las principales especies bentónicas nocivas que lo conforman son *Ostreopsis* y *Gambierdiscus*.

2.1.2 Toxicidad de microalgas bentónicas

Según el Instituto Español de Oceanografía (23), menciona que los impactos socioeconómicos de las microalgas nocivas son los siguientes: causan daños a la salud pública, incremento de mortandad de los organismos marinos y afectan a la economía.

Las microalgas de origen bentónico pueden originar floraciones algales nocivas (FANs), que significa la producción de toxinas que directamente representan un riesgo a la salud, a la economía de un país, e inclusive mortandad masiva en el mar, este último se da debido a que según la densidad en las que se presenten las microalgas ($\geq 10^6$ cel/L) pueden agotar el oxígeno requerido e incluso bloquear sus branquias, causando una alta mortalidad de peces e invertebrados (27).

En relación a la clasificación que interesa abordar en este estudio, *Ostreopsis* y *Gambierdiscus*, las cuales a diferentes variaciones físicas, químicas, biológicas y cantidad de nutrientes promueven o restringen su crecimiento y toxicidad, esta toxicidad puede llegar al hombre por medio de la cadena trófica, mediante bioacumulación, por otro lado, las toxinas pueden ser tan potentes que no es necesario que se encuentren en grandes concentraciones. A continuación, se presentan algunas características:

2.1.2.1 *Ostreopsis*.

Las microalgas del género *Ostreopsis* son muy abundantes en climas tropicales y regiones templadas dónde bajo determinadas condiciones ambientales, por ejemplo en verano con el aumento de las temperaturas, se aprecia una mayor presencia de especies tóxicas como: *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* cf. *siamensis* y en consecuencia los niveles de toxicidad se incrementan (1). Este género es productor de toxinas como *palitoxina* y *ovatoxinas* que son letales para las personas (28).

La *palitoxina* representa una de las sustancias no proteicas más tóxicas que producen cambios en la permeabilidad de la membrana de célula, generando despolarización y muerte, originada por antozoos y dinoflagelados bentónicos del género *Ostreopsis*, ubicadas principalmente en lugares tropicales y subtropicales, connotando que esta toxina se ha encontrado en peces, cangrejos y mejillones, que se introducen de forma fácil a la cadena alimenticia (29).

Así mismo, en los seres humanos provoca síntomas como vómitos, diarrea, daño muscular, calambres musculares, espasmos, parestesia de las extremidades, y en situaciones más graves ocasiona la muerte en 30 minutos y de 2 a 4 días con previas afecciones respiratorias (30).

Por su parte, la *ovatoxina* presenta un mecanismo de acción igual a la *palitoxina*, por lo que las moléculas son cadenas de polialcoholes solubles en agua con zonas lipofílicas, con floración masiva en el verano; el contenido de toxina se ubica en rango 0.28 a 0.94 pg/ célula a temperaturas entre 18°C y 31.5°C (31). En la actualidad han descrito diez

especies del género *Ostreopsis* (Figura 1), su identificación taxonómica ha sido muy discutida y compleja debido a la gran similitud en su forma, tamaño, exhibición de placas etc., este género es muy común en zonas con altas temperaturas como ecosistemas tropicales y subtropicales, sin embargo, se ha reportado su presencia en zonas templadas del mar Mediterráneo (32).

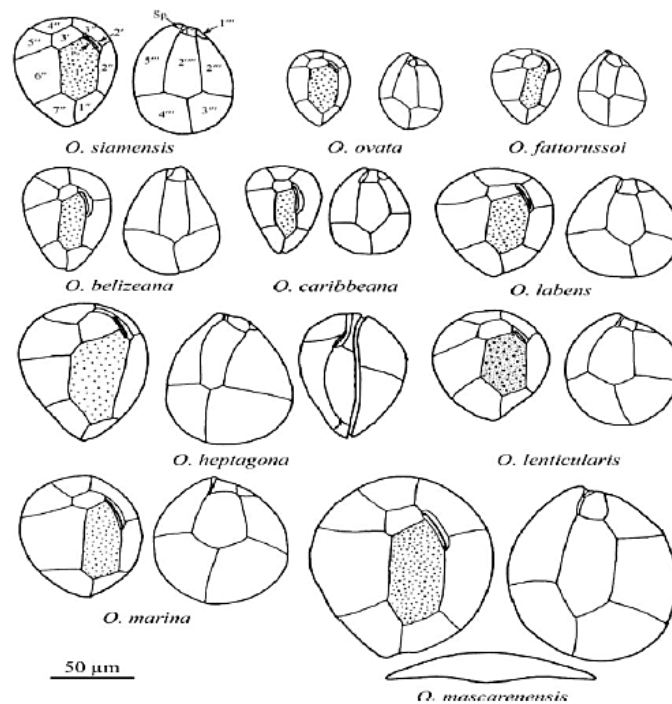


Figura 1. Dibujos lineales de las nueve especies de *Ostreopsis*
Fuente: Accorni et al., 2016.

2.1.2.2 *Ostreopsis lenticularis*.

La especie *Ostreopsis lenticularis*, es fotosintética con muchos cloroplastos de color marrón dorado, están lenticuladas a un óvalo amplio, la superficie de la celda es lisa, está cubierta con poros espaciados, presenta una forma más redonda, así como un tamaño más grande que las demás especies de *Ostreopsis*, existen alrededor de 11 especies (33) (30).

La especie *Ostreopsis cf lenticularis* produce *ostreotoxina* (OTX), una toxina soluble en el agua, siendo el principal vector dinoflagelado béntico implicado en el

envenenamiento de peces en la costa sureste de Puerto Rico, es decir, ocasiona envenenamiento de peces, por lo que al estar expuestos a temperaturas elevadas (30-31 ° C), incrementan significativamente la cantidad de toxinas y existe mayor proliferación (34).

2.1.2.3 *Ostreopsis ovata*

La microalgas bentónicas *Ostreopsis cf. ovata* es una especie fotosintética compuestos de cloroplastos dorados, forma delgada y ovadas; siendo las más pequeñas del género (35).

La especie *Ostreopsis cf. ovata* produce *palitoxina* relacionado con intoxicaciones por consumo de pescado, produciendo síntomas como el vómito, diarrea, náuseas, hormigueo, y pulso irregular, representando síntomas parecidas a la ciguatera, pero la mortalidad es superior (30) (35).

2.1.2.4 *Gambierdiscus*.

Las microalgas bentónicas *Gambierdiscus*, en altos niveles producen toxinas como *ciguatoxinas* y *maitotoxinas*, siendo uno de los géneros más temidos, pues, se encuentran en peces de arrecifes como barracudas y al consumirlo afecta negativamente en la salud de los seres humanos (32). Cabe recalcar que ambas toxinas se derivan a través de la red alimentaria que se acumulan en algunas especies como los peces y moluscos, su presencia se encuentra en mayor proporción en sus vísceras y tejidos (2).

La *ciguatoxinas* son producidos por algunas cepas del género *Gambierdiscus*, a la vez son incoloras, inodoras, termoestables y solubles en grasas; se encuentran en el hígado, musculo, piel y espinas de peces grandes, esta toxina ingresa a través de la cadena alimentaria, es decir, que cuando se consume pescados como gato, barracuda, etc., la misma que se incuba entre 30 minutos a 6 horas, es así como el nivel de toxicidad depende con la edad y volumen del pez que se ingiere. Afecta a la salud de los seres humanos debido a que provoca la ciguatera, la toxina se aloja en el músculo de las

personas que ingirieron el alimento contaminado, ocasiona varios síntomas como diarrea, vómito, dolor abdominal, ataxia, parestesia en extremidades, bradicardia, alucinaciones visuales y auditivas, convulsión, parálisis muscular, y en situaciones extremas la muerte por problemas respiratorios (36).

Asimismo, la *maitotoxina* es una toxina altamente peligrosa producida por todas las cepas del género *Gambierdiscus*, estas a su vez son solubles en agua y se encuentran en intestinos de peces herbívoros (37). Los síntomas se presentan de 12 a 8 horas luego de la ingestión, provocando dolor de cabeza, alucinaciones, inversión de la sensación térmica, hormigueo en labios y lengua, parálisis muscular, convulsiones, pérdida de equilibrio, mialgia, vértigo, pulso irregular y en ocasiones más graves la muerte (28).

2.1.2.5 *Prorocentrum lima*.

El género *Prorocentrum lima* es un dinoflagelado bentónico distribuido en las aguas costeras tropicales a templadas, poseen un alto peso molecular, éteres policíclicos y con propiedades de solubilidad, este género produce las toxinas lipofílicas (38).

Esta toxina ocasiona intoxicaciones diarreicas (VDM) debido al consumo de mariscos, lo cual incide en diversos síntomas como dolor abdominal, vómitos, y diarreas, estas conllevan a la deshidratación de las personas (29).

2.1.2.6 *Coolia*.

Las microalgas bentónicas de género *Coolia* causan compuestos químicos que inhiben la proliferación de otras microalgas, ubicadas a 3 m de profundidad, en el que considera la temperatura y el agotamiento de la intensidad de la luz. Este género produce la *cooliatoxina* (35).

La *cooliatoxina* es un análogo de YTX debido a que posee similar peso molecular que la 1-desulfó, esta toxina ocasiona síntomas neurológicos, hormigueo, parálisis de labio, lengua, cara; dolor de cabeza, alucinaciones, etc., (29).

2.1.2.7 Impactos socioeconómicos de las microalgas nocivas.

Las microalgas bentónicas ocasionan impactos socioeconómicos como problemas a la salud pública, mortandad de organismos marinos y a la economía (23). Los compuestos químicos generados por las microalgas bentónicas se transfieren la toxicidad a otros organismos marinos y al ser humano ambas situaciones ocasiona daños al entono y a la salud (35).

Se genera impactos a la economía derivado de la pesca, acuicultura (aumento de niveles de toxina), y problemas en la ejecución de las actividades de turismo, provocando inconvenientes y atascos en la pesca, vedas de moluscos (conchas, ostiones, etc.) y marea roja (23).

Medina et al. (2012), manifiestan que el estado de las microalgas es el principal indicador para conocer la situación de los organismos y entorno acuático, la toxicidad de las microalgas puede ocasionarse por la derivación de productos químicos, esto afecta a los peces, moluscos entre otros, debido a que es la base de la cadena alimenticia marina (39) (40).

2.1.3 Condiciones climáticas del Ecuador

Debido a la combinación entre la ubicación geográfica, características geológicas y topográficas, climáticas, de precipitación y temperatura, Ecuador es considerado como un escenario perfecto para la concentración de vida (41). Ecuador se encuentra ubicado en el cinturón tropical del planeta, sobre la línea equinoccial, con territorio ubicados tanto en el hemisferio norte como en el sur, permitiendo que reciba alta insolación y luminosidad, lo que le da doce horas de luz diarias durante todo el año. Geográficamente, Ecuador se divide en 4 regiones naturales, cada una con múltiples pisos altitudinales y barreras geográficas, y son: región costa, sierra, oriente e insular (42). Por otro lado, Ecuador está influenciado por las corrientes marinas; fría de Humboldt al sur del país y cálida del niño al norte, así como de los vientos alisios que combinados generan una alta variedad de regímenes climáticos (7).

El clima de la costa ecuatoriana tiene durante todo el año dos etapas con marcadas diferencias. La etapa de lluvia que comienza en enero y termina en abril se caracteriza por ser muy húmeda, tiene altas temperaturas y los vientos que vienen del sur se debilitan y por el contrario aumentan los que vienen del norte (43). Estas condiciones climáticas costeras son producto de la interacción océano-atmósfera, por lo que se deduce que el clima de la zona costera del Ecuador está fuertemente influenciado por el Océano, variando fuertemente de norte a sur (43).

Las temperaturas máximas mensuales aumentan al centro y norte del Ecuador, pero disminuyen en las estaciones ubicadas a la entrada del golfo de Guayaquil. En general se observa un comportamiento a tendencias positivas significativas en las temperaturas máximas y mínimas. Las noches calientes tienen tendencia positiva en Guayaquil; la Libertad y Manta en Puerto Bolívar, presenta tendencia negativa, producto del aumento de las temperaturas mínimas que ocurren en la noche (44).

La temperatura es uno de los principales factores ambientales que afectan los procesos fisiológicos en el fitoplancton, actuando en diferentes etapas del crecimiento y la floración. No solo es uno de los cambios ambientales más importantes que se espera que cambie con el clima, sino que también es el menos contaminante, ya que ya ha habido una advertencia mensurable de la capa mezclada de la superficie (45).

2.2 Antecedentes

A lo largo de los años se han realizado diversos estudios sobre Floraciones Algales Nocivas (FAN), en el que señalan que este fenómeno es ocasionado por microalgas tóxicas que al contacto o transmisión mediante la cadena trófica provoca daños al entorno marino y a las personas (46). En base a esta problemática se han desarrollado varias investigaciones sobre la taxonomía, toxicidad de las microalgas, causas, efectos, entre otros (35).

Respecto a las microalgas bentónicas se conoce que el género *Ostreopsis* está presente todo el año en climas tropicales, sin embargo, en zonas templadas como el Mediterráneo es donde más se ha estudiado debido a que existe una diferencia de temperaturas entre verano e invierno (47). La especie *Ostreopsis* cf. *ovata* produce compuestos similares a la *palitoxina*, con mayor presencia por la temperatura y la competencia con otras especies metafiticas (30) (35). Por lo que la especie *Ostreopsis* cf. *ovata*., sigue un patrón estacional claro (48). La toxicidad del dinoflagelado *Ostreopsis* está asociado con efectos nocivos para la salud humana y el medio ambiente (49). Por ejemplo, la especie *Ostreopsis fattorussoi* sp produce *ovatoxina* (OVATX-a) (31). Afectando a los seres humanos debido a que provoca varios síntomas como vómito, diarrea, parálisis muscular, entre otros (1).

No obstante, en las costas italianas el género *Ostreopsis* forman proliferaciones en la zona norte lo que provoca la mortalidad de los organismos marinos (50). Un hecho similar se reporta en las costas francesas, australianas, y playas rusas, los componentes toxicológicos encontrados fueron amina y aldehído de amina, este género causó daños al entorno marino (51) (52).

Si bien los dinoflagelados del género *Ostreopsis*, se encuentran en las costas del Mediterráneo, su proliferación se produce con mayor presencia en las costas del Caribe Oriental. Este lugar, al ser un espacio en el que la actividad turística es el principal medio de vida se ha detectado intoxicaciones por ciguatera, provocadas por el consumo de pescado contaminado, la incidencia de estos casos se observa por el incremento en la temperatura de las aguas. Además de los seres humanos, las especies marinas también han sufrido impactos negativos (53).

Dentro de lo que corresponde a las Costas del Caribe, en el noreste de Cuba se pudo identificar especies nocivas como: *Prorocentrum belizeanum* Faust, *P. concavum* Fukuyo, *P. mexicanum* Tafall, *Coolia monotis* Meunier, *Ostreopsis* y *Gambierdiscus toxicus*; en el que el factor determinante es la temperatura, el tipo de nutrientes, la transparencia del agua y la velocidad del viento. Lo que provoca afectaciones a la salud relacionadas con problemas intestinales, neurológicos, inversión térmica, y los

ecosistemas marinos sufren impactos negativos debido a que existe un desequilibrio de sus condiciones naturales (54).

Similar a la situación presentada en las costas de la Isla San Andrés ubicadas en el Caribe Colombiano, existen evidencias de la presencia de dinoflagelados, uno de los hechos más palpables es el reporte de casos de intoxicaciones en la población tras haber consumido diferentes productos del mar. Los estudios reportan la presencia de *Gambierdiscus toxicus*, *Prorocentrum spp.*, *Ostreopsis lenticularis* y *Coolia monotis* estos generan efectos nocivos en la salud de las personas debido a la alta concentración de toxinas. Las dificultades que los individuos experimentan con mayor frecuencia son: vómito, calambres abdominales, diarrea, náuseas, dolores de cabeza, comezón, inversión térmica, parálisis muscular, alucinaciones visuales y auditivas, vértigo, pérdida del equilibrio, entre otros (28).

En cambio, en Antillas Menores (Mar del Caribe), los dinoflagelados epibentónicos se monitorearon mensualmente en la isla Guadalupe y Martinica, en el que los resultados no mostraron variaciones estacionales claras de las abundancias, por lo que la temperatura y la salinidad no fueron parámetros determinantes en la evolución de las abundancias, pues, el pasto marino o *Halophila stipulacea* alberga las mayores abundancias de *Gambierdiscus spp* y la mayor presencia de *Coolia* se determinó en *Galaxaura spp.* Estas islas representan la segunda región del mundo más afectada por intoxicación por peces ciguatera (PPC) (55).

Así en las costas del norte de la península de Yucatán ubicada al sureste del Golfo de México se encontraron abundancia de varias especies de dinoflagelados como *Ostreopsis* y *Gambierdiscus*, representando floraciones algales nocivas no pelágicas, es decir, distribuidas en aguas medias o cerca de la superficie, ocasionando un impacto ambiental negativo (56).

En la parte del Golfo de México que corresponde a la localidad de Veracruz se identificó 17 especies de dinoflagelados bentónicos de 11 géneros, siendo la especie más dominante la *Ostreopsis heptagona*, evidenciando un alto potencial de brotes de

ciguatera (57). Cabe mencionar que en el Golfo de México y el perfil costero colombiano se identificaron 27 especies de dinoflagelados epífitos, de las cuales 10 son agentes productores de toxinas como *Ostreopsis*, *Coolia*, *Amphidinium*, *Prorocentrum* y *Gambierdiscus*, es decir cuando en diferentes costas se presentan condiciones ambientales parecidas, la microalgas se proliferan (58) (59).

En relación a los estudios presentados en el Pacífico Oriental se conoció que el género *Gambierdiscus* (*Dinophyceae*) y otros dinoflagelados presentan un nivel alto de incidencia de microalgas bentónicas que ocasionan la intoxicación por ciguatera (60). Asimismo, en el Pacífico Tropical Oriental de Costa Rica se reportó casos de intoxicación ciguatérico producido por el género *Gambierdiscus*, en este estudio se analizaron 420 muestras y se identificaron diversas especies de dinoflagelados como *Gambierdiscus* spp., *Coolia tropicalis*, *Coolia* cf. *areolata*, *Prorocentrum concavum*, *Prorocentrum compressum*, *Amphidinium carterae* y *Ostreopsis siamensis*. Además, se conocieron diferentes tamaños de *Gambierdiscus*, concluyendo que existen dos nuevas especies. En cambio, al Oeste del Pacífico se presenta la especie *Ostreopsis*, sp que produce *palitoxina* (61). Cabe mencionar que, aunque estudios realizados han demostrado que las zonas del Caribe son donde más se manifiestan los casos de intoxicación ciguatérica, en las costas del Pacífico también abundan.

En cuanto a los estudios realizados en Ecuador, cabe señalar que el Ecuador no existen estudios relacionados con la toxicidad de las microalgas, el Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR) realiza monitoreo sobre la presencia de mareas rojas en la zona costera, Golfo de Guayaquil, Río Guayas, Estero del Salado, Canal de Jambelí y Galápagos, este evento es producido especialmente por la presencia de gran cantidad de dinoflagelados (63). Por lo que el INOCAR se enfoca más en estudios fitoplanctónicos en áreas costeras del país como Manta, Libertad, Santa Elena, Guayaquil, Esmeraldas y Galápagos, existiendo un vacío de información respecto a ecosistemas bentónicos (64).

En Ecuador existen tres estudios de tipo bentónico realizados en la Reserva Marina Galápagos, Reserva Marina Galera San Francisco (Esmeraldas), Estero de Plátano (Esmeraldas) y Playa Mateo (Manabí).

Por consiguiente en el estudio realizado en la Reserva Marina Galápagos (RMS) sobre la presencia de microalgas potencialmente tóxicas, se identificaron 5 géneros de dinoflagelados, *Ostreopsis*, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Amphidinium* y *Coolia*, en la que domina el género *Ostreopsis* con abundancias más elevadas ($1,47 \times 10^5$ cél.g macroalga⁻¹), la presencia de estos se le atribuye a las características geográficas y climáticas de las islas, lo que representa una amenaza para el turismo y los planes de conservación de la zona, atentando a la salud y la economía de los residentes e incluso afectando a los ecosistemas marinos (1).

Por otro lado, en otro estudio en Ecuador en la provincia de Esmeraldas, en la reserva Marina Galera San Francisco, sobre la presencia de especies de dinoflagelados potencialmente tóxicos, donde se identificaron a los géneros: *Ostreopsis* y *Prorocentrum*, llegando a la conclusión de que, debido a la baja abundancia de individuos encontrados, el área no supone un riesgo a la salud humana, aunque no se puede descartar esto último a falta de estudios sobre esta temática, puesto que en el mes de diciembre existe mayor abundancia de *Ostreopsis* max 861 ± 244 cel.g macroalga⁻¹ (2).

Finalmente, en el estudio realizado en la provincia de Esmeraldas y Manabí, en el Estero de Plátano y Playa Mateo, sobre la primera evidencia de *Ostreopsis* cf. *ovata*, donde se identificaron 13 cepas distribuidas al norte (6 cepas) y al sur (7 cepas), por lo que al analizar las moléculas se comprobó que no eran tóxicos, lo que significa que no contenían compuestos similares a la *palitoxina* (11).

2.3 Marco legal

La toxicidad de microalgas es un problema ambiental debido a que representan la base de cadena alimenticia de otras especies marinas, así como en el consumo humano provocan daños al ecosistema acuático y a la salud de la población. Por esta razón, el Consejo de las Comunidades Europeas ha establecido las medidas para el control oficial de productos alimenticios (65). En el Reglamento (CE) N° 178/2002 (66), se crea la

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), incluyendo principios, responsabilidades, procedimientos y requisitos para el régimen alimentario basado en el cuidado de la salud de la población. Del mismo modo, el Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea (67), en el Reglamento (CE) N°853/2004 tipificada en el Art. 11 establece decisiones específicas para el tratamiento de alimentos, especialmente en los apartados a partir del 3 al 9, en el que se detalla que es necesario realizar otros tratamientos para moluscos bivalvos, incluyendo la detección temprana de biotoxinas marinas a través de métodos de ensayos, considerando los valores máximos, procedimientos, y tolerancias, con la finalidad de establecer controles y proteger a la salud de la población.

Otro aspecto, es la emisión de las normas para el control de productos de origen animal destinadas al consumo humano, detallado en el Reglamento (CE) N° 854/2004 (5), en el que se efectúan inspecciones para verificar el estado de la carne basado en información sobre la cadena alimenticia, bienestar *ante mortem* y *post mortem*. En el Art. 6 del mismo reglamento añade que la producción y comercialización de especies marinas están sujetos a controles oficiales. Por otra parte, en el Reglamento (CE) N° 2074/2005 (6), se establecen medidas de aplicación de los productos, por lo que en el Art. 3 menciona los métodos de análisis para detectar biotoxinas marinas especificados en el anexo III. Los métodos son para detección de las toxinas paralizantes de molusco (PSP), toxinas amnésicas de molusco (ASP), y toxinas lipofílicas. En el Reglamento (UE) N° 15/2011 de la Comisión (68), se modifica los métodos de detección de biotoxinas en moluscos bivalvos vivos.

En cuanto a países de Centroamérica como Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Honduras y Costa Rica utilizan el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50.08 (69), en el que se establecen parámetros microbiológicos de los alimentos, límites permitidos y vigilancia en los lugares de comercialización, entre estos alimentos en el grupo N° 9 se encuentran los pescados, derivados y productos marinos y en subgrupo N° 9.3 están los moluscos bivalvos vivos, para el que se cumple un plan de muestreo para identificar riesgos a la salud pública. En varios países de Latinoamérica como Argentina, Perú y Uruguay, aplican los reglamentos emitidos por el Parlamento

Europeo y del Consejo de la Unión Europea para detectar y controlar las toxinas marinas. En cambio, en Chile adapta el reglamento emitido por países centroamericanos, denominado Reglamento Sanitario de los Alimentos DS 977/96 (70), en el que se establecen parámetros microbiológicos de los alimentos, límites permitidos, vigilancia, plan de muestreo para cada categoría y clase. En el Art. 333 del mismo reglamento señala que los mariscos para el consumo humano no pueden contener más de 80 mcg/100 g de PSP ni más de 20 mcg/g ASP, y por ningún motivo debe contener DSP.

No obstante, el Ecuador no cuenta con un reglamento específico para la detección de toxinas marinas en las costas del país, representando un riesgo ambiental, a la salud, pública, y a la economía. Cabe señalar que cuando existe presencia de microalgas que ocasionan la marea roja el Instituto Oceanográfico de la Armada y el Ministerio del Ambiente se encargan del control de toxicidad de las microalgas, sin embargo, no existe un plan de vigilancia continua. Al formar parte de la Comisión del Código Alimentario aplica el manual de procedimientos emitido por la FAO y la Organización Mundial de la Salud (71), en el que consta textos base, normas, directrices, y análisis de riesgos sobre los alimentos, adicionalmente, se determina la Norma General del Codex para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos y piensos únicamente para identificar microtoxinas (72).

Por consiguiente, el Ecuador tiene el TULSMA como instrumento de legislación ambiental, que consta en el Libro VI, Anexo 1, Acuerdo N° 061 (73), basado en la preservación de ecosistemas acuáticos, límites máximos de descarga de sustancias, incluyendo el control de sustancias a través de ensayos de bioacumulación, siendo importante realizar estudios sobre la microalgas bentónicas en las costas del país.

3. CAPÍTULO II: MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Área de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en 8 puntos a lo largo de la costa del Ecuador en las provincias de: Esmeraldas, Manabí y Santa Elena, durante el mes de agosto, en verano (Figura 2).

La provincia de Esmeraldas se encuentra ubicada en el noroccidente del Ecuador, en donde las mayores altitudes no sobrepasan los 600 msnm., con una extensión de 15.906 km², presenta una temperatura que varía entre 21°C y 25°C. El perfil costanero de Esmeraldas tiene una longitud de 230 Km aproximadamente, donde se realizaron 3 puntos de muestreo: al norte Bocana de Ostiones, y al sur: Cumilínche y Estero de Plátano (74).

- **La playa Bocana de Ostiones**, se encuentra en el cantón Río verde, cuenta con una vegetación de bosque seco y un manglar, la entrada del mar es poco visitada y se caracterizó por tener rocas aisladas y una fuerte turbidez (74).
- **Cumilínche y Estero de Plátano** están ubicadas en el cantón Muisne, son playas turísticas, donde se observan construcciones de hosterías privadas y poca vegetación, estas playas se caracterizaron por tener rocas uniformes con una alta presencia de macroalgas padinas y coralinas (74).

La provincia de Manabí se encuentra situada al occidente del Ecuador, con una extensión de 18.940 km², sus elevaciones no sobrepasan los 1.200 metros sobre el nivel del mar, cuenta con una temperatura que varía entre los 23 y 25 °C. El perfil costanero de la provincia de Manabí se extiende a 350 km, donde se muestrearon 3 puntos: Santa Marianita, Canoa y Salango (75).

- **Santa Marianita**, es un pequeño poblado dedicado primordialmente a la pesca, se observaron construcciones de casas residenciales y hoteles, con poca

cobertura de vegetación y se caracterizó por tener una roca maciza con pocos parches dispersos de macroalgas coralinas (75).

- **Canoa**, cuenta con 17 km de playa, por lo que es considerada como la playa más larga del Ecuador, cuenta con un pequeño poblado que se dedica a la pesca, surf y pequeño turismo, se pudo observar poca cobertura vegetal seca, grandes roqueros, con una gran diversidad de macroalgas y la presencia de una especie de macroalga invasora (75).
- **Salango**, cuenta con 5 km de playa, su temperatura fluctúa entre los 25 y 29 °C, posee una vegetación arbustiva, se pudo identificar la presencia de una empresa pesquera y varios canales de tuberías que atravesaban la playa, en la playa se puede observar una gran roca maciza, con pocos parches de macroalgas coralinas y padinas y blooms de cianobacterias, así como la alta presencia de musgo (75).

La provincia de Guayas se encuentra ubicada al suroeste del país, con una superficie de 17,139 km², la fuerte intervención de las corrientes marinas fría de Humboldt y cálida de El Niño producen que el clima sea de tipo tropical sabana y tropical monzón, con temperaturas que oscilan los 25 °C, sus elevaciones no superan los 1100 metros sobre el nivel del mar y su perfil costanero es de 230, donde se muestreo la playa de Ballenita (76).

- **Ballenita**, es un pequeño pero importante puerto pesquero y balneario, situado a poca distancia de la libertad y de Santa Elena. Su playa cuenta con una extensión de 1600 metros, posee un clima seco, con temperaturas que oscilan los 25 °C (76).

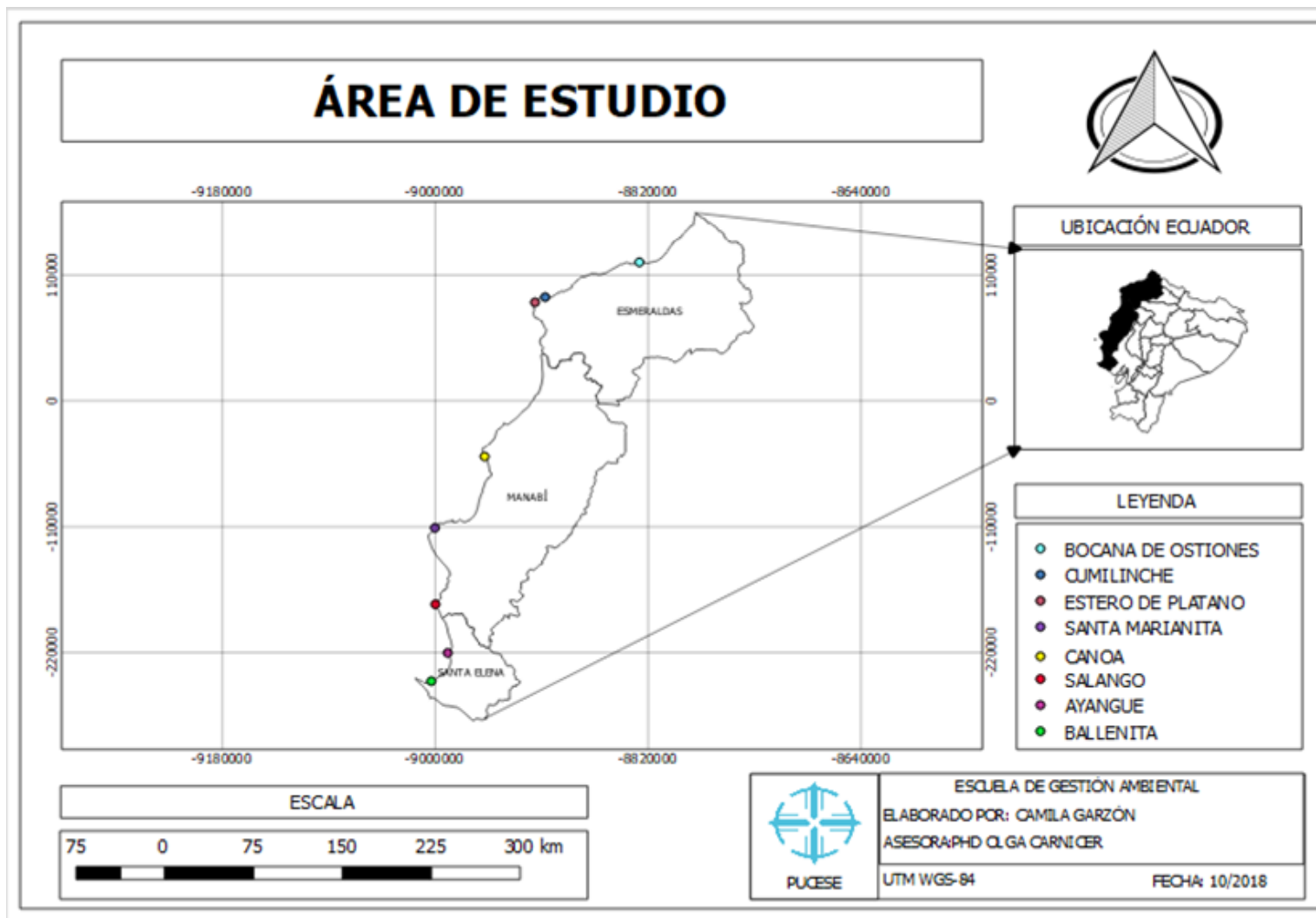


Figura 2. Área de Estudio: Ubicación de las Estaciones y Puntos de Muestreo.

3.2 Recolección de muestras

Para realizar la estimación de la abundancia celular, se aplicó la metodología propuesta por Carnicer (2016), la cual se basa en recolectar macroalgas, con la finalidad de analizar la comunidad de microalgas bentónicas potencialmente tóxicas presentes en estos sustratos. Para lo cual, las muestras fueron colectadas a mano mediante buceo a una profundidad entre 1 y 2 metros, tomando 6 muestras a lo largo de los puntos de muestreo: 3 muestras en sustrato liso (macroalga *Padina*) y 3 en sustrato branqueado (macroalga *Coralina*)

Las muestras con agua de mar recogidas fueron colocadas en botellas plásticas de 1000 ml, agitando vigorosamente durante un minuto para provocar que las microalgas se desprendan del sustrato. Posteriormente las microalgas fueron filtradas a través de un tamiz de 200 μm de tamaño de poro con la finalidad de separar los sedimentos y partículas en suspensión. El volumen de agua filtrado fue transferido mediante un embudo a tubos Falcón® de 50 ml, y se fijó con una solución de formol al 3% agitando lentamente para su concentración.

Las muestras fijadas fueron almacenadas en obscuridad y conservadas en refrigeración hasta ser transportadas al laboratorio de la Universidad Católica del Ecuador Sede Esmeraldas, para posteriormente ser cuantificadas.

Las macroalgas, se guardaron en bolsas de plástico con cierre hermético para ser pesadas en una balanza semi analítica (*Mettler Toledo SB32001 DeltaRangge*).

3.3 Análisis Físicoquímico del Agua

Los factores físicoquímicos que se registraron en el presente estudio son: salinidad (ppm), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), y pH.

El análisis de los parámetros físicoquímicos del agua se realizó a través de una sonda multiparamétrica YSI-EXO2, la cual fue calibrada previo a su utilización, el análisis se

llevó a cabo de manera superficial sumergiendo el sensor de la sonda aproximadamente a un metro, cada punto de muestreo fue localizado mediante un GPS GARMIN ETREX. Para el análisis de nutrientes, fue realizado por el INOCAR, para ello se recolectó una muestra de agua, que fue almacenada en una botella ámbar de 1000 ml y refrigerada en oscuridad.

3.4 Análisis de Laboratorio

Las muestras, previo al análisis de laboratorio pasaron por un proceso de aclimatación (2 a 6 horas), y una vez a temperatura ambiente se procedió a la homogenización de las muestras de manera manual invirtiéndolas despacio y continuamente en forma de ocho durante el lapso de un minuto. Para la identificación y recuento de microalgas se utilizó el método de Utermöhl (1958) el cual consiste en someter a las muestras a sedimentación por gravedad. Respecto al análisis de los nutrientes se aplicó lo estipulado por INOCAR respecto al análisis de correspondencias múltiples (77), por lo que la muestra de agua tomada del área de estudio se almacenó en una botella y refrigeró en la oscuridad.

3.5 Identificación y cuantificación de dinoflagelados y diatomeas bentónicas.

Para el análisis cuantitativo de dinoflagelados bentónicos y diatomeas se realizó la sedimentación de la muestra en cámaras de Utermöhl, y se colocó una alícuota de 3 ml en la placa durante 1 hora, previo a su análisis. Las cámaras se cubrieron con un cubre objeto de cristal cuadrado evitando la formación de burbujas, y las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente, protegiéndolas de la luz solar directa y sobre una superficie plana para evitar posibles vibraciones y la sedimentación se realice homogéneamente sobre la placa.

La identificación se realizó bajo un microscopio invertido (Optika ®). Para enumerar los organismos de mayor tamaño se examinó el fondo de la cámara con un aumento de 20x, mientras que para los organismos pequeños y de mayor abundancia se examinó uno o dos transeptos con el objetivo de 40 x.

Los taxones de dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos fueron identificados mediante la literatura disponible: (Reguera, 2003; Penna et al., 2012; Carnicer, 2014; Murray et al., 2014; Carnicer, et al., 2015; Carnicer et al., 2016), hasta el nivel de género. Las diatomeas fueron identificadas según su forma: pennales (presenta valvas con forma lineal u oval) y centrales (Figura 3) (presenta valvas con forma céntrica, con una simetría radial), también se identificaron algunas como género (78).

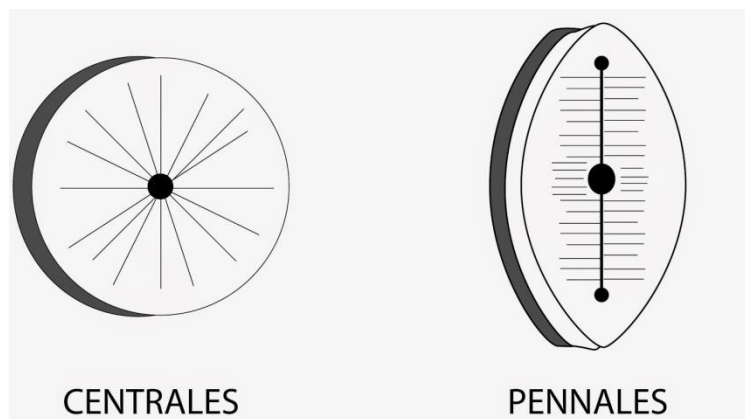


Figura 3. Diatomeas pennales y centrales

Fuente: Buendía, Tavera y Novelo, 2015

Para las muestras de macrófitos la concentración celular fue expresada en número de células por gramos de peso húmedo de macroalgas $\text{cél. g macroalga}^{-1}$, la cual será calculada mediante la siguiente fórmula:

$$N = (X * f * v) / P$$

Dónde:

N: Densidad/Concentración celular

X: Número de células contadas

f: Factor de conversión en función del volumen de la cámara de Utermöhl utilizado (2,973 ml)

v: Volumen total de agua filtrada

P: Peso húmedo de macroalgas/sustrato

La identificación de los organismos y la obtención de las fotografías se realizaron mediante el programa Optika Vision Lite con el objetivo 60x, y se procedió a la medición de las células del género *Ostreopsis*. El Software fue debidamente calibrado de acuerdo al tamaño del dinoflagelado, y las mediciones se realizaron en base al tamaño dorsoventral (DV) y ancho (A) de la célula, con la finalidad de realizar una aproximación en cuanto a la identificación de especies potencialmente tóxicas de este género.

Análisis de datos

La comparación de abundancias y tamaños de las células presentes, se realizó mediante el análisis de varianza multiparamétrico (ANOVA) con el programa SPSS, teniendo como diferencias significativas aquellas que tengan un *valor p* < 0,05.

4. CAPITULO III: RESULTADOS

4.1 Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos del agua del mar presentaron un amplio rango de valores de una estación a otra. En cuanto a los componentes físicos, se pudo observar que existe una mayor temperatura al norte de costa ecuatoriana, en la provincia de Esmeraldas, siendo la temperatura más alta en Bocana de Ostiones con 29,2 °C, y la más baja en la provincia de Manabí-Santa Marianita con 23,1 °C. Por otro lado, el pH se mantuvo relativamente constante oscilando entre 8.26 y 8.76. Finalmente, la salinidad varía entre 29,1 y 35,7 ppm, excepto ballenita difiriendo significativamente del resto de estaciones con una salinidad de 19,3 ppm (Tabla 1).

Tabla 1. *Parámetros físico-químicos del agua de mar en las estaciones de muestreo*

LUGAR	TEMPERATURA (°C)	PH	SALINIDAD (ppm)
Bocana de Ostiones	29,2	8,26	n.d.
Cumilinche	27,7	8,55	29,1
Estero de plátano	27,6	8,39	31,4
Canoa	24,5	8,55	n.d.
Santa Marianita	23,1	8,58	30,8
Salango	23,5	8,76	n.d.
Ayangue	24,1	8,48	35,7
Ballenita	n.d.	n.d.	19,3

Nota. ppm = Partes por millón (unidad de medida de salinidad en el agua).

4.2 Nutrientes

En cuanto a los nutrientes se pudo observar que Estero de Plátano es la estación con mayor cantidad de nutrientes, por otra parte, se encontró una menor cantidad de nutrientes en Ballenita. La cantidad de nitritos varía entre 0,001 y 0,008 (mg/L), con una cantidad de nitratos que no superan los 0,004 (mg/L), los fosfatos varían entre 0,012 y 0,034 (mg/L) y los silicatos alcanzan un valor máximo de 0,691 en Ayangue (Tabla 2).

Tabla 2. *Nutrientes del agua de mar en las estaciones de muestreo*

LUGAR	NITRITO (mg/L)	NITRATO (mg/L)	FOSFATO (mg/L)	SILICATO (mg/L)
Bocana de Ostiones	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cumilínche	0,008	0,004	0,032	0,165
Esteros de plátano	0,008	0,004	0,034	0,463
Canoa	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Santa Marianita	0,002	0,001	0,012	0,338
Salango	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ayangue	0,005	0,001	0,022	0,691
Ballenita	0,001	0,002	0,016	0,069

4.3 Presentación de la comunidad.

En cuanto a la composición de la comunidad, los grupos dominantes fueron las diatomeas, siendo las navículas las más abundantes y se encontraron presentes en todos los puntos de muestreo, Salango (macroalga lisa) y Ayangue (macroalga branqueada), fueron los sitios con mayor abundancia con una media de 389052397 ± 128425986 y 278222088 ± 55139964 cel/gr.macroalga⁻¹ respectivamente. Por otro lado, la diatomea con menor abundancia fue las *Bidulphia*, presentándose únicamente en Estero de Plátano con una media de 8048 ± 2040 cel/gr.macroalga. En cuanto a los dinoflagelados se encontraron dos especies: *Ostreopsis* cf. *ovata* y la *Ostreopsis* cf. *Lenticularis*, siendo la más abundante y con mayor distribución la *Ostreopsis* cf. *Ovata*, el punto con mayor abundancia fue Estero de Plátano con 151484 ± 33383 y 131712 ± 6052 cel/gr.macroalga⁻¹ en cada macralga branqueada y lisa respectivamente (Tabla3).

Tabla 3. Presentación de la comunidad.

Nota1: Desvest: indica la desviación estándar de 3 réplicas de cada macroalga Nota2 Unidad de medida cel/gr.macroalga⁻¹

Lugar		BOCANA DE OSTIONES	CUMILINCHE		ESTERO DE PLATANO		SANTA MARIANITA		CANOA		SALANGO		AYANGUE	BALLENITA	
Macroalga		Branqueada	Lisa	Branqueada	Lisa	Branqueada	Lisa	Branqueada	Lisa	Branqueada	Lisa	Branqueada	Branqueada	Lisa	Branqueada
<i>Navicula</i>	Media	137785792	172451282	150615048	98659166	160705327	90599775	62169322	123641539	77922400	389052397	84731725	278222088	116207036	52845045
	Desvest	55326164	44427114	26041236	13618045	46287202	43041131	8348205		45528366	128425986	18809204	55139964	76870654	48877293
<i>Coccinodiscus</i>	Media	7638	14124	6951	10542	7547	6767	3972	7912	4293	60082	4760	219555	3330	990
	Desvest	2697	5223	3083	3183	590	5838	335		2119	18409	1791	126981	2070	1374
<i>Licmophora</i>	Media	4935	11988	5802	9682	8552	0	1137	0	0	45151	26620	3837	0	0
	Desvest	2988	5672	605	2030	1065	0	1087		0	14565	7929	4226	0	0
<i>Grammatophora</i>	Media	6834	4885	7391	3478	3078	0	22330	27033	17240	38437	9718	18779	0	0
	Desvest	1955	2049	491	2305	3053	0	5859		12922	12689	3374	4146	0	0
<i>Rhabdonema</i>	Media	0	6667	6482	11107	10168	0	0	0	751	0	0	0	0	0
	Desvest	0	2377	497	4457	3731	0	0		1161	0	0	0	0	0
<i>Bidhulphia</i>	Media	0	0	0	0	8048	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Desvest	0	0	0	0	2040	0	0		0	0	0	0	0	0
<i>Diatomea centrica</i>	Media	5906	14497	11096	8889	7937	29529	22941	19615	28646	84832	6550	35076	36768	18011
	Desvest	4773	4862	3453	2989	1403	20152	5927		13237	27230	2481	7831	19881	16134
<i>Diatomea pennada</i>	Media	5489	30827	27037	20703	22310	148363	26302	25879	41420	143145	11996	112613	70663	39166
	Desvest	1698	10608	4694	1960	4138	74364	7858		20999	48303	4197	35547	42916	34840
<i>O cf. ovata</i>	Media	0	67802	55482	131712	151484	0	1042	0	0	78730	17411	14934	0	0
	Desvest	0	12486	17865	6052	33383	0	85		0	29379	5413	2804	0	0
<i>O cf. lenticularis</i>	Media	22818	0	0	0	0	0	0	0	0	9643	1535	17842	0	0
	Desvest	6292	0	0	0	0	0	0		0	5896	777	5202	0	0

4.3 Composición de dinoflagelados potencialmente tóxicos

En la identificación de las microalgas bentónicas, se determinó la presencia de 2 especies potencialmente tóxicas, la *Ostreopsis* cf. *ovata* y la *Ostreopsis* cf. *lenticularis*. La *Ostreopsis* cf. *ovata* tuvo una amplia distribución a lo largo de la costa ecuatoriana, siendo identificadas en Estero de Plátano, Cumilínche, Santa marianita, Salango y Ayangue, por otro lado, la *Ostreopsis* cf. *lenticularis*, tuvo una menor distribución siendo identificadas únicamente en: Bocana de Ostiones, Salango y Ayangue.

4.4 Abundancia de dinoflagelados potencialmente tóxicos.

La especie con mayor abundancia fue *Ostreopsis* cf. *ovata*, se pudo identificar que, en los diferentes puntos de muestreo, la abundancia si tuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$, ANOVA), en donde la estación con mayor abundancia fue Estero de Plátano con 206212 ± 16015 cel/gr.macroalga⁻¹, seguida por Cumilínche con 177719 ± 77029 cel/gr. macroalga⁻¹, por otro lado, el lugar con menor abundancia fue Salango con 41736 ± 29840 cel/gr.macroalga⁻¹.

Con respecto a la *Ostreopsis* cf. *lenticularis*, presentó una diferencia estadísticamente significativa de abundancia en los diferentes puntos de muestreo ($p < 0,05$, ANOVA), esta se presentó en 3 estaciones, de las cuales la mayor abundancia fue en Bocana de Ostiones con 22818 ± 6291 cel/gr.macroalga⁻¹, mientras que el lugar con menor abundancia fue Salango con 9642 ± 5896 cel/gr.macroalga⁻¹.

La abundancia de *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* cf. *lenticularis*, no presentaron preferencias en cuanto al sustrato (liso y branqueado), debido a que, la abundancia en las dos macroalgas no tuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$, ANOVA) (Figura 4).

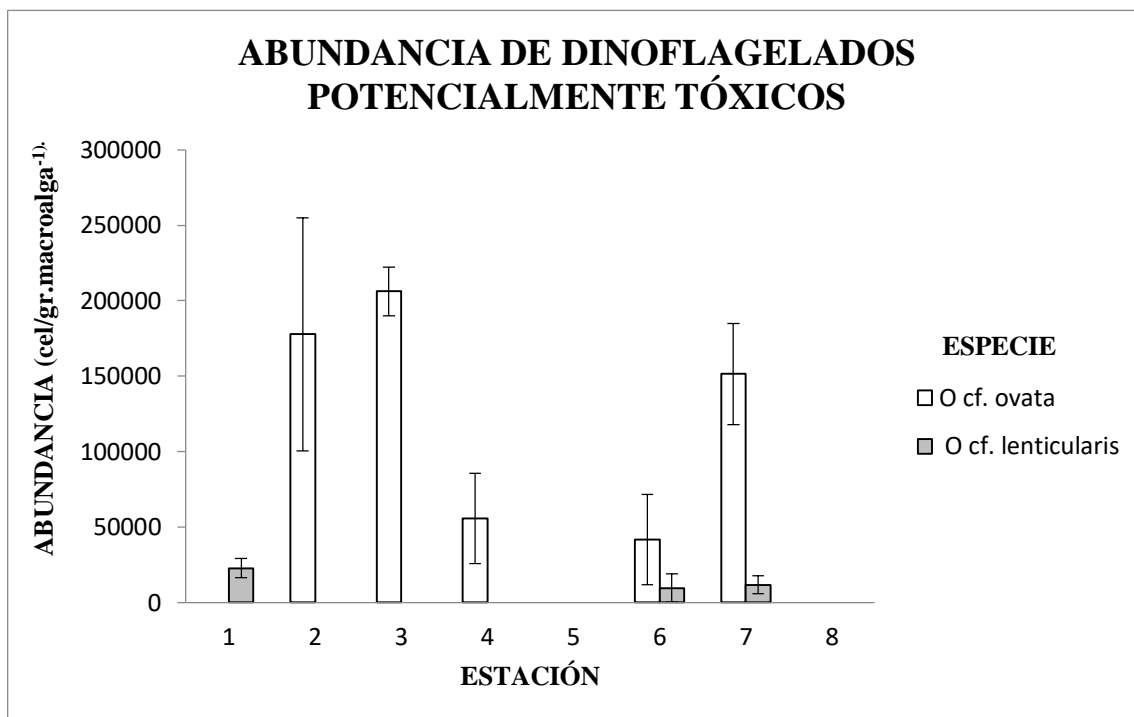


Figura 4. Abundancia de dinoflagelados potencialmente tóxicos.

Nota: 1 Bocana de Ostiones, 2 Cumilinche, 3 Estero de platano, 4 Santa Marianita, 5 Canoa, 6 Salango, 7 Ayangue y 8 Ballenita.

4.5 Tamaño celular del género *Ostreopsis* en los puntos de muestreo

La descripción morfológica respecto al tamaño celular perteneció al género *Ostreopsis*, el cual tiene forma ovoidal-claviforme terminando en punta en su zona ventral. Se distinguieron 2 especies: *Ostreopsis* cf. *ovata* y la *Ostreopsis* cf. *lenticularis*.

Se midieron 30 células de cada especie en cada estación, las células de *Ostreopsis* cf. *ovata* presentaron una forma de lágrima bien definida, cuyos valores DV varían entre $56,80 \pm 5,91 \mu\text{m}$ y $70,55 \pm 3,37 \mu\text{m}$ y de A varían entre $35,15 \pm 4,94 \mu\text{m}$ y $50,45 \pm 2,73 \mu\text{m}$.

Las células de mayor tamaño se encontraron en la provincia de Esmeraldas, en la estación Estero de Plátano con un tamaño DV = $70,55 \pm 3,37 \mu\text{m}$ y un A = $50,47 \pm 2,73 \mu\text{m}$, las células con menor tamaño se encontraron en la provincia de Manabí (Figura 5).

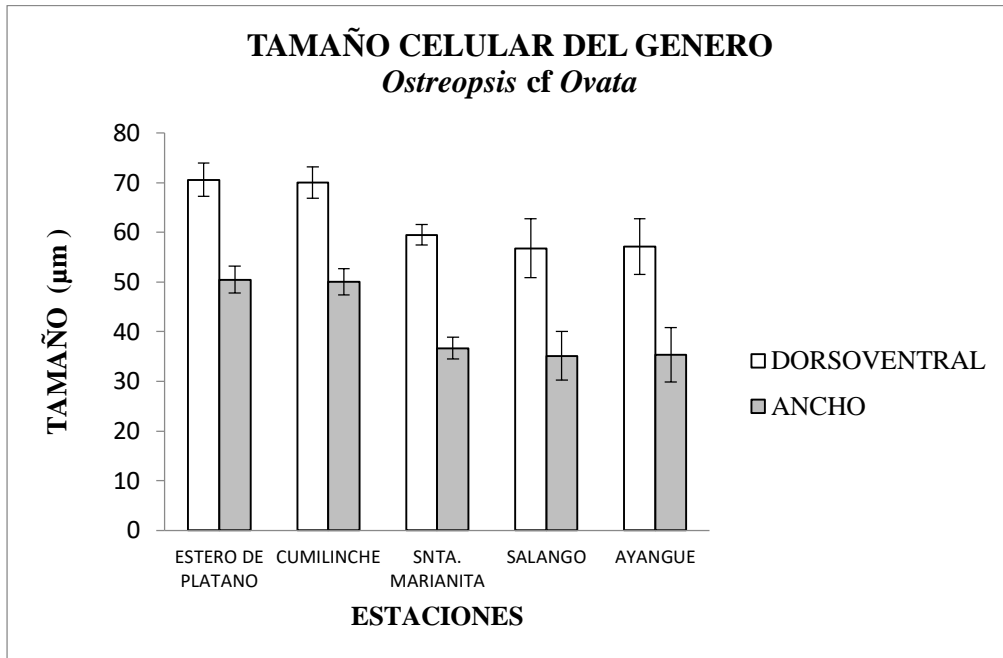


Figura 5. Tamaño celular del genero *Ostreopsis cf. ovata*.

Los datos se dividieron en dos subgrupos según el análisis HSD Tukey, el subgrupo 1 que engloba a las estaciones (Ayangue, Salango y Santa Marianita), con una media de $57,81 \pm 1,47 \mu\text{m}$ y el subgrupo 2 (Cumilínche y Estero de Plátano), con una media de $65,76 \pm 6,76 \mu\text{m}$ (Figura 6).

LUGAR	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
5	30	56,7973	
4	30	57,1363	
6	30	59,5033	
2	30		69,9800
1	30		70,5543
Sig.		,111	,985

Figura 6. Análisis HSD Tukey tamaño *Ostreopsis cf ovata*.

Nota. 1 = Cumilínche, 2 = Estero de Plátano, 4 = Ayangue, 5 = Salango, 6 = Santa Marianita.

Por otro lado, las células *Ostreopsis cf. lenticularis*, presentaron un mayor tamaño, con una forma ovalada levemente puntiaguda en la zona ventral, sus valores fueron relativamente constantes teniendo una variación entre DV = $117,52 \pm 4,21$ y $124,08 \pm 14,5$ μm y A= $97,18 \pm 5,28$ μm y $100,75 \pm 2,2$ μm .

Las células con mayor tamaño se encontraron en la provincia de Esmeraldas, estación Bocana de Ostiones, con un valor de DV= $124,08 \pm 14,50$ μm y A= $100,75 \pm 2,20$ μm , lo que indica que existe diferencia significativa de la especie encontrada en esta estación, pues, es mayor a las otras dos (Figura 7).

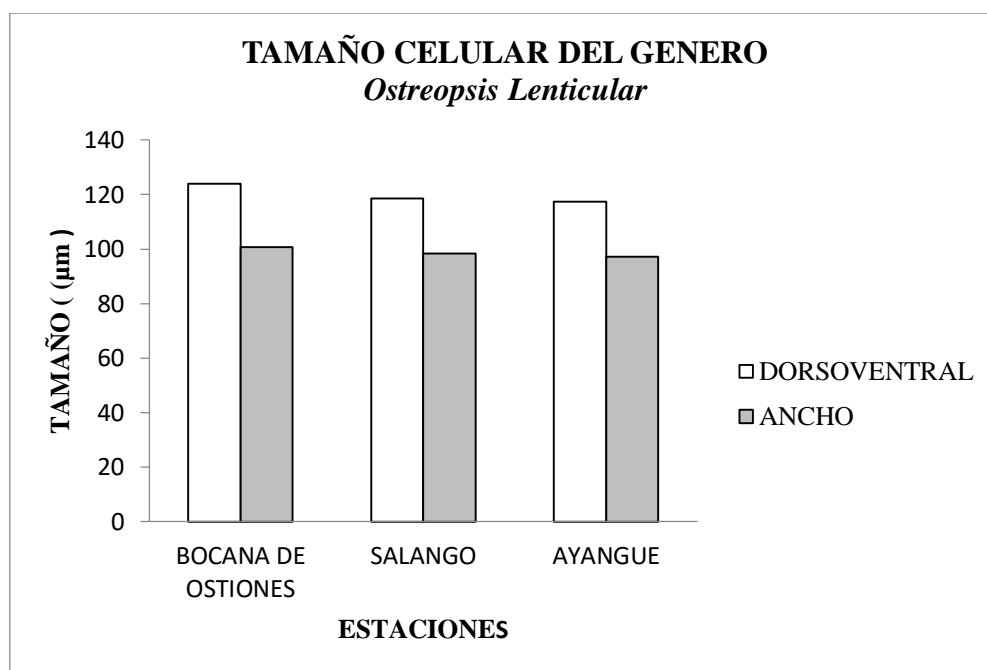


Figura 7. Tamaño celular del género *Ostreopsis cf. lenticularis*.

Los datos se dividieron en dos subgrupos según el análisis HSD Tukey, el subgrupo 1 que engloba a las estaciones (Ayangue y Salango), con una media de 118.02 ± 0.72 μm y el subgrupo 2 (Bocana de Ostiones), con un $124,08$ μm (Figura 8).

HSD Tukey^a

LUGAR	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4	30	117,5153	
5	30	118,5377	
3	30		124,0833
Sig.		,896	1,000

Figura 8. Análisis HSD Tukey tamaño *Ostreopsis cf lenticularis*.

Nota. 3 = Bocana de Ostiones, 4 = Ayangue, 5 = Salango.

5. CAPITULO IV: DISCUSIÓN

La presente investigación constituye el primer estudio de comunidades fitoplanctónicas bentónicas a lo largo de la costa del Ecuador, ya que los precedentes se centraban en un solo punto o únicamente se investigaron comunidades fitoplanctónicas. En el presente trabajo se pudo identificar 2 especies del género *Ostreopsis*; *Ostreopsis cf. lenticularis* y *Ostreopsis cf. ovata*, lo cual puede suponer un riesgo sanitario y ambiental que puede afectar a la salud, economía, etc.

En cuanto a la comunidad bentónica en general se identificó que en todas las estaciones de muestreo las diatomeas tienen mayor abundancia y distribución que los dinoflagelados, esto probablemente ocurra por que se desarrollan en temperaturas cálidas (16). La mayor abundancia y distribución posiblemente sea porque las diatomeas no cuentan con capacidad de movimiento en comparación con los dinoflagelados. Esto significa que el movimiento depende del nivel de turbulencia y mezcla de la columna, es decir, esta especie se adapta a vivir a lo largo de la columna de agua (79). Con respecto a los dinoflagelados, solo se encontraron *Ostreopsis*, cuya presencia en la costa Ecuatoriana no es inesperada, ya que resultados similares son reportados en estudios realizados en zonas cercanas al océano pacifico como: (89), (56), (11), (2) y (12), realizadas en las costas de Venezuela, México y Ecuador respectivamente, por otro lado, esta especie cuenta con una distribución cosmopolita y tiene una alta capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales, por lo que Ecuador al estar influenciado por las corrientes de Humboldt y del niño, posee las características

climáticas ideales para su crecimiento (30). No obstante, actualmente este dinoflagelado se ha expandido hacia regiones más templadas como el Mediterráneo, incluso llegando a formar FAN intensas (31).

En caso del género *Ostreopsis* cf. *lenticularis* son productores de toxinas como *ostreotoxina* (OTX) que representa un vector bentónico que ocasiona ciguatera en peces (34), incluyendo efectos nocivos en la salud de la población, entre los síntomas que se manifiestan son el vómito, calambres abdominales, diarrea, náuseas, entre otros; localizadas en las costas la Isla San Andrés del Caribe Colombiano (28). Este género se identificó en las costas del suroeste de Puerto Rico, evidenciando que es una especie tropical (34). Lo que significa que esta especie solo se ha encontrado en climas tropicales, y que presenta poca tolerancia a cambios ambientales, por lo que se encuentra asociado a temperaturas cálidas, las mismas que fueron registradas en esta investigación haciéndose presente en 3 estaciones Bocana de Ostiones, Salango y Ayangue cuyas temperaturas varían entre 29 y 23.5 °C (34).

Asimismo, existen diversos factores que influyen en las abundancias de las especies de *Ostreopsis*, en el que los aspectos determinantes representan la temperatura, nutrientes, transparencia del agua y velocidad del viento (54). En la presente investigación no se pudo realizar un análisis de componentes principales (ACP), ni establecer una correlación entre factores ambientales y abundancia celular, por falta de información y temporalidad, sin embargo se pudo observar que en la zona norte (Cumilínche, Estero de Plátano, Bocana de Ostiones) existe más abundancia de *Ostreopsis*, probablemente sea debido a una mayor temperatura que oscila entre 27,1 – 29,2 °C, así como nutrientes (nitrito y nitrato), pH constante, los cuales se encontraron en mayor abundancia, por otro lado en la parte sur (Ayangue, Ballenita, Santa. Marianita, Salango) existe menor abundancia o presencia de este género, posiblemente sea por un bajo nivel de temperatura, ubicándose entre 23,1 – 24,5 °C, así mismo, se obtuvo una menor cantidad de nutrientes y pH alto. De tal modo que las mayores abundancias podrían relacionarse con las altas temperaturas, en el que la *Ostreopsis* necesita alcanzar un umbral de temperatura fija de 25°C para germinar e iniciar su floración, por eso es más abundante en la zona norte, lo cual coincide con los estudios de (31) (33). Por lo tanto, en

temperaturas elevadas existe máximo riesgo de presencia de floraciones microalgales (56). Este género de microalgas se localizan principalmente en zonas tropicales y subtropicales, incluyendo en zonas templadas (32) (30) (11). Existe más abundancia de *Ostreopsis* cf. *ovata* en época de verano, temporada en que se presenta mayor cantidad de toxinas (31).

Por otro lado, células de la especie *Ostreopsis* cf. *ovata* fueron encontrados en el Mar Mediterráneo noroccidental por Carnicer et al., (2015) (30). La abundancia de esta especie se presenta en todas las zonas costeras rocosas debido a la condición hidrodinámica, especialmente en épocas de verano (33). Iguales resultados se presentaron en la zona del Pacífico este tropical, ubicados en el norte-sur de Galápagos, evidenciando que las altas concentraciones de este género se presentan en época de invierno se ubican en 13°C y en verano con 31°C; relacionadas con las detectadas en el Mediterráneo porque la temperatura superficial del agua son parecidas (80). Incluso en otro estudio efectuado por Carnicer et al., (2016) en el Estero de Plátano (Esmeraldas) y Playa Mateo (Manabí) se registró la primera evidencia de esta especie en las costas ecuatorianas, evidenciando que la *Ostreopsis* cf. *Ovata*, es una especie con una alta tolerancia a cambios ambientales y una distribución cosmopolita. (11).

Las dos *Ostreopsis* identificadas no presentaron diferencias estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en la abundancia de las dos macroalgas (lisa y branqueada), este resultado es corroborado por Ramírez (2017) en el que comparando *Coralina* y *Padina* durante 6 meses en Estero de Plátano, las abundancias de *O.* cf. *ovata* no variaron con respecto a la textura de la macroalga (2). En otra investigación desarrollada por Ruíz (2016) destaca que las abundancias dependen de los sustratos como las macroalgas, por lo que los cambios en proliferación de dinoflagelados posiblemente son ocasionados por estimulación o inhibición en base a las microalgas epífitas mediante exudados algales (81).

En cambio, cuando existen diferencias significativas respecto a la profundidad y en época de verano se presenta mayor desarrollo de las macroalgas (54); denotando que el

sustrato es adecuado para la proliferación de especies nocivas, por lo que las hojas de pastos y macroalgas son fuente de sustrato (28).

Por otro lado, Vila, Garcés, y Masó (2001) señalan que las *Ostreopsis* presentan preferencias por sustrato porque los puntos de muestreo están ubicados cerca de arroyos derivados del manglar del que obtienen nutrientes (48). Lo que indica que posiblemente dispone de un alto nivel de sustrato para la colonización, e incluso el crecimiento de las especies del género *Ostreopsis* es influenciado por una turbulencia moderada (82) (48) (83).

En cuanto a la morfología respecto al tamaño celular de ambas especies encontradas presentó una forma ovoidal-claviforme, terminando en punta en su zona ventral, lo que indica que la identificación del género *Ostreopsis* es compleja y controvertida debido a su similitud entre especies (84) (32) (59). Por esta razón, en este estudio se midieron 30 células de cada especie para añadir información sobre su morfología con el instrumental disponible en el laboratorio de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Sede Esmeraldas (PUCESE).

En este estudio para la identificación de las microalgas halladas se desarrollaron mediciones de 30 células en cada estación; pues, no se cuenta con el equipo necesario para aplicar otros tipos de métodos más eficientes y precisos utilizados en la actualidad como biología molecular, microscopía electrónica o calcofluor para observar la distribución de las placas (2). Esto con la finalidad de lograr una identificación más precisa de las especies de microalgas, siendo importante que la mejora de las metodologías para este tipo de estudio. Por consiguiente, las mediciones que se efectuaron coinciden con las especies del género *Ostreopsis* cf. *lenticularis* y *Ostreopsis* cf. *ovata*, esta última variedad también fue identificada por Carnicer et al., (2016) y Ramirez (2017) específicamente en la Reserva Marina Galera San Francisco (11) (2). En los análisis hemolíticos realizados por Carnicer et al., (2016) se comprobó que las *Ostreopsis* cf. *ovata* no contenían compuestos tóxicos (11). No obstante, dentro de la especie *O.* cf. *ovata*, existen 3 subespecies, las cuales se distinguen por su toxicidad (38), pero también se especifica la variabilidad intraespecífica que existe en cada

subespecie en cuanto a su toxicidad, pudiendo encontrar cepas tóxicas y no tóxicas en un mismo grupo. En consecuencia, no se puede afirmar sobre la toxicidad de la cepa *Ostreopsis* cf. *ovata* encontrada en el presente estudio, pues, probablemente dependa del aumento de temperatura y la irradiación, adaptándose mejor en ambientes ligeramente agitados (48) (47).

Asimismo, las células de mayor tamaño de *Ostreopsis* cf. *ovata* se hallaron en la estación Estero de Plátano con dorso ventral de $70,55 \pm 3,37 \mu\text{m}$ y ancho de $50,47 \pm 2,73 \mu\text{m}$ mientras que las células de mayor tamaño de *Ostreopsis* cf. *lenticularis* fueron identificados la estación Bocana de Ostiones con dorso ventral de $124,08 \pm 14,50 \mu\text{m}$ y ancho de $100,75 \pm 2,20 \mu\text{m}$, reflejando que tiene una forma más redonda y un tamaño más grande que las demás especies de *Ostreopsis* (33); siendo más fácil su discriminación debido a que son diferentes en su tamaño. Por lo que se deduce que probablemente existen células más grandes en los puntos con mayor temperatura, registrándose en la zona norte de la región costera, así como los flujos de agua menos pronunciados para la distribución, abundancia y floraciones más frecuentes del género *Ostreopsis* (30).

Las células con menor tamaño se encontraron en la provincia de Manabí, denotando que cuando existe una alta concentración de células, las mismas disminuyen su tamaño (células reproductoras) en la fase exponencial, con el fin de tener un menor descaste energético metabólico y reservarlo para la reproducción, de esta manera logran reproducirse más rápido. (11). Por lo que en los sitios en donde se encontraron células pequeñas probablemente sean más óptimos para el desarrollo de esas especies, por lo tanto, puede haber más posibilidades de formar blooms (85).

A pesar de que Ecuador es un país con condiciones climáticas propicias para el desarrollo de dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos, que cuenta con una superficie pequeña, un gran perfil costero y que la mayoría de la población se alimenta de recursos marinos, no dispone de un reglamento ni se rige a uno que ayude a monitorear e identificar las toxinas en alimentos. Por lo que representa un riesgo ambiental, impacto a la salud pública y a la economía (1). Pues, únicamente dispone de

un instrumento de legislación ambiental (TULSMA) enfocado en la preservación de ecosistemas acuáticos y control de sustancias a través de ensayos de bioacumulación que detalla en el Acuerdo Ministerial N° 061 (73). Además, el INOCAR y el Ministerio del Ambiente realizan el control cuando existe microalgas que ocasionan la marea roja, pero, falta un plan de vigilancia continua.

Similar situación se presenta en estudios y monitoreos sobre los dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos, lo que se traduce en la carencia y vacíos en la parte investigativa. Sin embargo, en los últimos años se ha efectuado más estudios gracias a la publicación de la revista *Frontiers In Marine Science* presentado por Borbor, et al., (2019), en el que se presentan datos del INOCAR que antes solo quedan en reportes y en la actualidad se toman en cuenta y son útiles en este tipo de estudios (77). En la misma revista se destaca que en Ecuador únicamente existe un estudio de dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos desarrollado por Carnicer, et al., (2016). A partir de esta investigación se derivan estudios basados en las comunidades de microalgas bentónicas expuestas por Ramírez (2017) y Yépez(2018), aportando a comprender las condiciones en las que se desarrollan este tipo de microalgas (2) (1).

Finalmente, es importante que se implementen políticas basadas con el control sanitario de las especies marinas, y un sistema de monitoreo permanente equipado con programa de análisis biotoxinas (77), incluso se deben realizar más estudios a profundidad para comprobar la toxicidad o no de estas 2 especies, pues, ayuda a identificar el nivel de concentración de toxinas como la palitoxina (11). Esto con la intención de evitar eventos que afecten a la salud de la población, preservar el ecosistema marino y evitar pérdidas económicas.

6. CONCLUSIONES

- En el presente estudio se identificaron dos especies de microalgas potencialmente tóxicas pertenecientes al dinoflagelado del género *Ostreopsis* *O. cf. lenticularis* y *O. cf. ovata* en ocho puntos de la costa del Ecuador, abarcando las provincias de Esmeraldas, Manabí y Santa Elena. Su presencia a lo largo de la costa refleja su distribución cosmopolita y adaptación a amplios rangos de diferentes condiciones ambientales como es el caso de la costa ecuatoriana. En el presente estudio no se pudo confirmar la toxicidad de las especies de *Ostreopsis* por falta de medios, pero se tiene que tener en cuenta que la presencia de dinoflagelados potencialmente tóxicos puede representar una amenaza contra la salud pública, turismo, actividades pesqueras o acuícolas y economía por lo que se recomienda incluir estudios de toxicidad en futuras investigaciones.
- La especie *Ostreopsis cf. ovata* estuvo presente en 5 puntos de muestreo, siendo además la más abundante, alcanzando concentraciones de 206212 ± 16015 cel/gr.macroalga⁻¹ reflejando una distribución cosmopolita, mientras que *Ostreopsis cf. lenticularis* se presentó tan solo en 3 puntos de muestreo con abundancias mucho menores 22818 ± 6291 cel/gr.macroalga⁻¹, por lo que en la costa Ecuatoriana se repite la dominación de la especie *O. cf. ovata* como ocurre en otras zonas de estudio como el Mediterráneo.
- Los datos obtenidos únicamente cubren una estación del año por lo que no se pudieron establecer correlaciones entre abundancias y factores ambientales por falta de datos y temporalidad. Sin embargo, se observó que la mayor abundancia del género de *Ostreopsis* en las costas ecuatorianas podrían relacionarse con las altas temperaturas, especialmente en la zona norte (Cumilínche, Estero de Plátano, Bocana de Ostiones) que oscila entre 27,1 – 29,2 °C, así como nutrientes (nitrito y nitrato), pH constante y salinidad. Se recomienda un

seguimiento de este estudio para poder fortalecer estos resultados abarcando diferente épocas del año.

- La identificación de los dinoflagelados potencialmente tóxicos se realizó mediante el análisis morfológico de las células, para lo cual se tomaron medidas dorsoventrales (DV) y ancho (A) de 30 células de cada especie, debido a que no se cuenta con el equipo necesario para aplicar otros tipos de métodos utilizados en la actualidad como biología molecular, microscopía electrónica o calcofluor, por lo que se realizó una aproximación de su identificación.
- En cuanto al tamaño celular de las especies de *Ostreopsis* presentaron un mayor tamaño en la provincia de Esmeraldas. Las células con menor tamaño se encontraron en la provincia de Manabí, por lo que su menor tamaño pueda ser debido a que algunos dinoflagelados disminuyen su tamaño, con el fin de reproducirse más rápido, a los cuales se los denomina como células reproductivas, por lo tanto en estas zonas puede haber mayor riesgo de blooms.

7. RECOMENDACIONES

- Tomar en cuenta los puntos de muestreo determinados en el perfil costanero del Ecuador y la estacionalidad, para que sean de referencia para futuras investigaciones con la finalidad de ampliar nuevos puntos de muestreo y generar información más detallada de la caracterización de las especies bentónicas potencialmente tóxicas y de la correlación entre factores ambientales y abundancia celular.
- Implementar las nuevas metodologías relacionadas con la biología molecular y microscopía electrónica a través de la utilización de equipos especializados y certificados para este tipo de investigación, lo que permitirá contar con información más precisa sobre su toxicidad e identificación de especies, así como del ambiente en el que se desarrollan para efectuar mecanismos estratégicos con el propósito de mitigar posibles impactos al entorno. Así como la generación de reglamentos específicos para controlar, monitorear e identificar las toxinas en alimentos, incluyendo protocolos para la toma de muestras con su respectivo análisis de este tipo de especies.
- Formar alianzas a nivel interinstitucional, con el fin de incentivar la implementación de reglamentos de monitoreo y control de toxicidad marina en los productos alimenticios.
- Planificar y ejecutar controles continuos en el perfil costanero del Ecuador, en el que se registre el tipo de especies potencialmente tóxicas, detallando los parámetros fisicoquímicos, nutrientes, composición, abundancia y tamaño celular con la finalidad de contar con información actualizada de las especies bentónicas.
- Diseñar y sociabilizar planes de contingencia de alerta temprana para difundir información sobre el impacto de las microalgas potencialmente tóxicas y

posibles vectores a través de programas de prevención y control, en el que participen la población que habita cerca del perfil costanero, lo que garantizará el bienestar de las comunidades respecto a la salud pública, aspectos sanitarios y cuidado del resto del entorno.

REFERENCIAS

1. Yépez J. Presencia de dinoflagelados potencialmente tóxicos en la Reserva Marina Galápagos. Tesis. Esmeraldas: Pontificia Universidad Católica del Ecuador - Sede Esmeraldas, Escuela de Gestión Ambiental; 2018.
2. Ramirez A. Caracterización de la comunidad de microalgas epibentónicas de la Reserva Marina Galeras San Francisco. Tesis. Esmeraldas: Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Gestión Ambiental; 2017.
3. Soliño L. Detección de toxinas marinas y caracterización de su mecanismo de acción mediante ensayos celulares. Aplicaciones a la identificación de riesgo de alimentos. Cataluña; 2015.
4. Bertikian J, Fortuna A, Ganum O. Beta-caroteno a partir de las microalgas. Segunda ed. EAE , editor. España: EAE; 2015.
5. Reglamento (CE) N° 854/2004. Bruselas; 2004.
6. Reglamento (CE) N° 2074/2005. Bruselas; 2005.
7. FAO. La FAO advierte sobre el impacto del cambio climático en el ecosistema marino más productivo del mundo: la corriente de Humboldt. [Online].; 2018 [cited 2018 Octubre 28. Available from: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/1145104/>.
8. INOCAR. Noticias INOCAR. [Online].; 2018 [cited 2018 Octubre 28. Available from: <https://www.inocar.mil.ec/web/index.php/21-proyectos/inocar-se>.
9. Glibert P, Allen I, Artiolo Y, Beusen A, Bouwman L, Harle J, et al. Vulnerability of coastal ecosystems to changes in harmful algal bloom distribution in response to climate change: projections based on model analysis. *Global Change Biology*. 2014; XX: p. 3845–3858.
10. Torres G. Evaluación de las mareas rojas durante 1968-2009 en Ecuador. *Acta Oceanográfica del Pacífico*. 2015; XX(1): p. 89-98.
11. Carnicer O, García M, Andree K, Diogéne J, Fernández M. First evidence of *Ostreopsis cf. ovata* in the eastern tropical Pacific Ocean, Ecuadorian coast. *Botánica Marina* ed. Dring M, editor.: De Gruyter; 2016.
12. Yépez J, Keith I, Ramírez A, Chávez N, Carnicer O. Presencia de Microalgas

- Epibentónicas en el Pacífico Este Tropical. *Revista Hallazgos* 21. 2018; III: p. 1-23.
13. Cajamar ADN Agro. ¿Qué son las microalgas? Interés y uso. *Negocio Agroalimentario y Cooperativo*. 2015 Octubre;(011).
 14. Abalde J, Cid Á, Fidalgo P, Torres E, Herrero C. *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*. Primera ed. Coruña: Universidad de Coruña/Servizo de Publicacións; 1995.
 15. Lara J. Los ecosistemas marinos. *CONABIO*. 2008; I: p. 135-159.
 16. Vicente E, Hoyos C, Sánchez P, Cambra J. *Metodología para el establecimiento del estado ecológico según la directiva de marco de agua: Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton* Madrid : URS; 2005.
 17. Costas E, López V. El papel del fitoplancton en el cambio climático: ¿cuánto depende nuestro destino de unas pequeñas microalgas? *Genética*. 2011 Febrero.
 18. Hernández D. Biodiversidad de algas planctónicas marinas (Cyanobacteria, Prasinophyceae, Euglenophyta, Chrysophyceae, Dictyochophyceae, Eustigmatophyceae, Parmophyceae, Raphidophyceae, Bacillariophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Dinoflagellata) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 2012 Septiembre;(85): p. 44-53.
 19. Tapia M. Composición y distribución del fitoplancton durante la prospección sísmica en la costa ecuatoriana, diciembre de 2008. *Acta oceanográfica del Pacífico*. 2013 Julio; 18(1): p. 75-89.
 20. Lacadena J. *Citogenética*. Primera ed. Madrid: Complutense S.A; 1996.
 21. Rivas R. *Diversidad y distribución de especies bentónicas por tipos de hábitats presentes en el ecosistema del área marina costera protegida de múltiples usos Lafken Mapu Lahual, en la Comuna de Río Negro, región de Los Lagos*. Tesis. Santiago de Chile: Universidad Austral de Chile, Escuela de Acuicultura y Pesquerías; 2010.
 22. Meave M, Zamudio M, Castillo M. Riqueza fitoplanctónica de la Bahía de Acapulco y zona costera aledaña, Guerrero, México. *Acta Botánica Mexicana*. 2012;(100): p. 405-487.
 23. Instituto Español de Oceanografía. *La competencia entre especies de microalgas*

- tóxicas puede ser importante para el desarrollo de sus poblaciones. Nota de Prensa. España: Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, IEO; 2017. Report No.: ISBN.
24. Reguera B. Floraciones de microalgas nocivas: diversidad de especies, diversidad de recursos afectados. In Floraciones de microalgas nocivas; 2013; Argentina. p. 1-3.
 25. Fabro E. Dinoflagelados tóxicos en el mar Argentino. Diversidad, abundancia y toxinas asociadas La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2017.
 26. Inglés S, Jordi A. Esos colores sospechosos del mar: proliferaciones algales. Al aire libre. 2015 Febrero;(5).
 27. Reguera B, Alonso R, Moreira Á, Méndez S. Guía para el diseño y puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas Paris: UNESCO; 2011.
 28. Mancera J, Gavio B, Arencibia G. Floraciones algales nocivas, intoxicación por microalgas e impactos en el desarrollo regional: el caso de San Andrés isla, Caribe colombiano. Cuadernos del Caribe. 2009 Enero;(13).
 29. Alfonso MdC. Desarrollo de métodos para el aislamiento y detección de toxinas marinas en productos de pesca y acuicultura. Primera ed. Lugo: USC; 2008.
 30. Carnicer O, Guallar C, Andree KB, Diogéne J, Fernández M. *Ostreopsis cf. ovata* dynamics in the NW Mediterranean Sea in relation to biotic and abiotic factors. Environmental Research. 2015; CXLIII: p. 89-99.
 31. Accoroni SRTPA, Capellacci S, Ciminiello P, Dell'Aversano C, Tartaglione L, Abboud-Abi Saab M, et al. *Ostreopsis fattorussoi* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic toxic *Ostreopsis* species from the eastern Mediterranean Sea. Journal of Phycology. 2016; LII(6): p. 1064-1084.
 32. Arbeláez N. Variación espacio-temporal del ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de *Thalassia testudinum* (Banks ex König, 1805) en Santa Marta, Caribe colombiano. Santa Marta; 2017.
 33. Accoroni S, Totti C. The toxic benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis* in temperate areas. Advances in Oceanography and Limnology. 2016; VII(1): p. 1-15.
 34. Ashton M, Tosteson T, Tosteson C. The effect of elevated temperature on the

- toxicity of the laboratory. *Revista de Biología Tropical*. 2003; LI(4): p. 1-6.
35. Coahu S, Lemée R. Vertical distribution of the toxic epibenthic dinoflagellates *Ostreopsis* cf. *ovata*, *Prorocentrum lima* and *Coolia monotis* in the NW Mediterranean Sea. *Cahiers de Biologie Marine*. 2012; LIII(3): p. 373-380.
 36. Vargas M, Morales A, Cortés J. Primer informe del género *Gambierdiscus* (*Dinophyceae*) y otros dinoflagelados bentónicos en el Parque Nacional Isla del Coco . *Rev. Biol. Trop.* 2012; LX(3): p. 187-199.
 37. FAO. Estudio de Alimentación y Nutrición sobre Biotoxinas Marinas. *Food Science and Technology International*. 2005; ii(1): p. 64.
 38. Salgado P, Pizarro G, Franco J, Riobo P, Bravo I. Perfil De Toxinas De *Prorocentrum Lima*. *IFOP*. 2012;; p. 2-3.
 39. Medina A, Piña M, Nieves J, Arzola M, Guerrero I. La importancia de las microalgas. *CONABIO Biodiversitas*. 2012;(103): p. 1-5.
 40. Hernández D, Almazán A. Especies de dinoflagelados del género *Gambierdiscus* (*Dinophyceae*) del Mar Caribe mexicano. *Revista de Biología Tropical*. 2004; 52(1): p. 77-87.
 41. Burneo S. *Megadiversidad*. Quito ;; 2009.
 42. Mendoza D. *Ecuador Mega diverso*. ; 2016.
 43. Moreano H. Interacción Océano-Atmósfera sobre la zona costera del Ecuador. *Acta Oceanografica del Pacífico*. 1983; II(1): p. 1-11.
 44. Hernández F, Santos J. Análisis de la variabilidad climática de la costa ecuatoriana. *Esmeraldas* ;; 2006.
 45. Wells M, Trainer V, Smayda T, Karlson B, Trick C, Kudela R, et al. Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. *Harmful Algae*. 2015;; p. 68-93.
 46. Reguera B, Ferrario M, Sar E. *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano* Madrid: Instituto Español de Oceanografía,; 2002.
 47. Mangialajo L, Ballesteros E, Torras X, Pinedo S, García M, Torres M. A new methodology based on littoral community cartography dominated by macroalgae for the implementation of the European Water Framework Directive. *Marine Pollution*

Bulletin 55. 2011;(172-180).

48. Vila M, Garcés E, Masó M. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquatic Microbial Ecology*. 2001;; p. 51-60.
49. Cohu S, Mangialajo I, Thibaut T, Blanfuné A, Marro S, Lemée R. Proliferation of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in relation to depth biotic substrate and environmental factors in the North West Mediterranean Sea. *Harmful Algae*. 2013;; p. 32-44.
50. Caronni S, Ceccherelli G, Navone A, Occhipinti A. Distribuzione e densità della microalga bentonica *chrysophaeum taylorii* lewis & bryan dalle coste nord a quelle centro orientali della sardegna. *Biología Marina*. 2010;; p. 292-293.
51. Rossini G. *Toxins and Biologically Active Compounds from Microalgae: biological effects and risk management* Londrés : CRC Press ; 2014.
52. Verma A, Hopperant M, Dorantes J, Harword T, Murray S. Molecular and phylogenetic characterization of *Ostreopsis* (Dinophyceae) and the description of a new species, *Ostreopsis rhodesae* sp. nov., from a subtropical Australian lagoon. *Harmful Algae*. 2016;; p. 116-130.
53. Celis J, Mancera J. Análisis histórico de la incidencia de la ciguatera en las islas del Caribe durante 31 años: 1980-2010. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras. 2015; XLIV(1): p. 7-32.
54. Delgado G, Lechuga C, Popowski G, Troccoli L. Epiphytic dinoflagellates associated with ciguatera in the northwestern coast of Cuba. *Biol. Trop.* 2006 Junio; 54(2).
55. Boisnoir A, Pascal P, Cordonnier S, Lemée R. Spatio-temporal dynamics and biotic substrate preferences of benthic dinoflagellates in the Lesser Antilles, Caribbean sea. *Harmful Algae*. 2018; LXXXI: p. 18–29.
56. Merino F, Okolodkov Y, Aguilar A, Osorio L, Herrera J. Floraciones algales nocivos en las aguas costeras del norte de Yucatán (2001-2013). *Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. 2014;; p. 161-180.
57. Okolodkov Y, Canpos G, Gárate I, González J, Hoppenrath M, Arenas V. Seasonal

- changes of benthic and epiphytic dinoflagellates in the Veracruz reef zone, Gulf of Mexico. *Aquatic Microbial Ecology*. 2007; XLVII: p. 223-237.
58. Mancera J, Montalvo M, Gavio B. Dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a material orgánico flotante (drift) en San Andrés Isla, reserva internacional de la Biosfera -Seaflower. *Caldasia*. 2014; XXXVI(1): p. 139-156.
59. Almazán A, Escobar S, Rosiles G. Benthic epiphytic dinoflagellates from the northern portion of the Mesoamerican Reef System. *Botánica Marina*. 2015;; p. 115-128.
60. Vargas M, Morales Á, Cortés J. Primer informe del género *Gambierdiscus* (Dinophyceae) y otros dinoflagelados bentónicos en el Parque Nacional Isla del Coco, Costa Rica, Pacífico Tropical Oriental. *Revista de Biología Tropical*. 2012; LX(3): p. 187-199.
61. Tanimoto Y, Yamaguchi H, Yoshimatsu T, Sato S, Adachi M. Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of toxic *Ostreopsis* sp. 1 and *Ostreopsis* sp. 6 (Dinophyceae) isolated from Japanese coastal waters. *The Japanese Society of Fisheries Science*. 2013;(79): p. 285–291.
62. Pesantes F. Dinoflagelados Fitoplancton del Golfo de Guayaquil. *Acta Oceanográfica del Pacífico*. 1983;; p. 283-399.
63. Cruz M. Marea Roja. Guayaquil ;; 2015.
64. Naranjo C, Tapia M. Composition and abundance of the plankton in the coastal area of Ecuador in may 2013. *Acta Oceanográfica del Pacífico*. 2016;; p. 27-45.
65. Directiva 93/99/CEE del Consejo. Medidas adicionales relativas al control oficial de los productos alimenticios. Bruselas;; 1993.
66. Reglamento (CE) N° 178/2002. Bruselas;; 2002.
67. Reglamento (CE) N° 853/2004. Bruselas;; 2004.
68. Reglamento (UE) N° 15/2011 de la Comisión. Bruselas;; 2011.
69. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Guatemala;; 2009.
70. Reglamento Sanitario de los Alimentos DS 977/96. Santiago: Ministerio de Salud Chile; 2011.

71. FAO/OMS. Comisión del Códex Alimentarius: Manual de Procedimiento. Roma;; 2016.
72. NTE INEN CÓDEX 192:2013. Norma General del Códex para contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos. Roma;; 2013.
73. Acuerdo Ministerial N° 061. Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente. Quito;; 2015.
74. GADPE Prefectura de Esmeraldas. Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Esmeraldas 2015-2025. Esmeraldas ;; 2015.
75. Gobierno Provincial de Manabí. Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial Manabí 2014-2024. Manabí ;; 2014.
76. Prefectura de Guayas. Plan de Ordenamiento Territorial de la Provincia de Guayas 2012-2021. Guayas;; 2012.
77. Borbor M, Torres G, Mantilla G, Casierra A, Bermúdez R, Rentería W, et al. Oceanography of Harmful Algal Blooms on the Ecuadorian Coast (1997-2017); Integrating Remote Sensing and Biological Data. *Frontiers in Marine Science*. 2019; VI(13): p. 1-19.
78. Buendía M, Tavera R, Novelo E. Florística y ecología de diatomeas bentónicas de la zona Lacustre de Xochimilco-Tláhuac, México. *Botanical Sciences*. 2015; XCIII(3): p. 531-558.
79. Peña V, Pinilla G. Composición, distribución y abundancia de la comunidad. Composición, distribución y abundancia de la comunidad. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 2002; 37(1): p. Revista de Biología Marina y Oceanografía.
80. Yépez Rondón J. B. KIRSAK,RNF,CO. Presencia de microalgas epibentónicas en el Pacífico Este Tropical. *Revista Científica Hallazgos21*. 2018;(3): p. 1-3.
81. Ruíz A. Composición y abundancia de especies de dinoflagelados asociados a praderas de pastos marinos y macroalgas en la isla de Barú, durante diferentes periodos climáticos. Bogotá;; 2016.
82. Quintana L. Dinoflagelados epítetos en la Costa Norte del Golfo de Morrosquillo (Sucre, Colombia). Sincelejo;; 2017.
83. Shears N, Ross P. Blooms of benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis* an

increasing and ecologically important phenomenon on temperate reefs in New Zealand and worldwide. *Harmful Algae*. 2009;(8): p. 916-925.

84. Penna A, Vila M, Fraga S, Giacobbe M, Andreoni F, Riobó P, et al. Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the Western Mediterranean sea based on morphology, toxicity and Internal Transcribed Spacer 5.8 S rDNA sequences. *Phycological Society of America*. 2005;(41): p. 212–225.
 85. Fraga S, Rodríguez F, Bravo I, Zapata M, Marañón E. Review of the Main Ecological Features Affecting Benthic Dinoflagellate Blooms. *Cryptogamie, Algologie*. 2012; XXXIII(2): p. 171-179.
 86. Gallardo J. *Ingeniería de Bioprocesos en el cultivo de dinoflagelados Almería* : Universidad de Almería ; 2009.
 87. Ramírez A, Blanco R, Okolodkov Y. *Diversidad de especies de algas epífitas marinas*. Segunda ed. Veracruz: CONABIO; 2011.
 88. Ecuador Costa. Datos de referencia sobre: culturas constructivas, respuestas locales y capacidad de inversión. *CRAterre*. 2016 Mayo; I: p. 1-18.
- 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

ANEXOS



Ilustración 1 Agitación de la muestra en botellas plásticas 1000 ml, agitando para provocar el desprendimiento de las microalgas del sustrato.



Ilustración 2 Filtración de agua de mar a través de un tamiz de 200 µm de poro para descartar partículas en suspensión.



Ilustración 3 Medición de Volumen



Ilustración 4 Transferencia de muestra a tubos Falcón ® de 50 ml.



Ilustración 5 Fijación de las muestras con formol 3%



Ilustración 6 Almacenamiento de macroalgas en bolsas de plástico con cierre hermético.



Ilustración 7 Identificación y cuantificación de dinoflagelados y diatomeas bentónicas.

PUNTOS DE MUESTREO:



Ilustración 8 Bocana de Ostiones- Esmeraldas.



Ilustración 9 Cumiliche- Esmeraldas.



Ilustración 10 Estero de Plátano-Esmeraldas.



Ilustración 11 Santa Marianita- Manabí.



Ilustración 12 Canoa- Manabí.



Ilustración 13 Salango- Manabí.



Ilustración 14 Ayangue- Manabí.

SUSTRATOS COLECTADOS:

Algas branqueadas:



Ilustración 15 Alga branqueada1.



Ilustración 16 Alga blanqueada 2.



Ilustración 17 Alga blanqueada 3.



Ilustración 18 Alga blanqueada 4.



Ilustración 19 Alga branqueada 5.



Ilustración 20 Alga branqueada 6.

Algas lisas:



Ilustración 21 Alga lisa 1.



Ilustración 22 Alga lisa 2.



Ilustración 23 Alga lisa 3.