



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas Área Botánica

**Caracterización genética, fisiológica y morfológica de cepas chilenas  
del dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella* (Whedon & Kofoid)  
Balech 1985.**

Alejandra Andrea Aguilera Belmonte  
CONCEPCION-CHILE  
2012

Profesor Guía: Patricia Gómez Vergara  
Dpto. de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

En Chile, *Alexandrium catenella* es la principal especie responsable de la producción del Veneno Paralizante de Mariscos (VPM) y su aparición ha sido recurrente en el sur de Chile. Esta especie pertenece al “complejo de especies *A. tamarense*”, el que fue definido en base a análisis de secuencias ribosomales nucleares, los que han agrupado a este complejo de especies en cinco clados filogenéticos, que se correlacionan más con la toxicidad de las cepas que con sus características morfológicas. Se ha demostrado que diversos factores ambientales, tales como la temperatura y la salinidad, afectan las respuestas de crecimiento y contenido de toxinas paralizantes en cepas de *Alexandrium*. La diversidad genética inter e intra específica en *Alexandrium* ha permitido desarrollar herramientas moleculares que permiten detectar su presencia en muestras de terreno. A pesar del impacto social y económico que ha causado *A. catenella* en Chile, los estudios comparativos, entre cepas chilenas de esta microalga, a nivel genético, morfológico y fisiológico son escasos.

Con el objeto de examinar la posible variabilidad genética y fisiológica entre poblaciones chilenas de *A. catenella* colectadas durante un mismo evento tóxico ocurrido en el año 2009, se investigó la presencia de variabilidad genética y fisiológica en siete cepas chilenas provenientes de las Regiones de Aysén (PFB37, PFB41, PFB 42 y PFB45) y Los Lagos (PFB36, PFB38 y PFB39), utilizando la secuenciación de la región ITS (ITS1 + 5.8S rDNA + ITS2) del ADN ribosomal nuclear y los parámetros de crecimiento y perfil de toxinas VPM. Los resultados mostraron que todas las cepas incluidas en este estudio pertenecen al clado NA/Grupo I y exhibieron una notable diversidad genética intraespecífica (3%). Además, se detectó variabilidad en los parámetros de crecimiento y contenido de toxinas entre las cepas. La cepa PFB45 presentó el contenido de toxinas VPM más alto, mientras que la cepa PFB41 el más bajo. Además, la cepa PFB 41 mostró la mayor densidad celular. En las cepas PFB38, PFB42 y PFB37, más del 98 % del contenido total de toxinas PSP correspondieron a las gonyautoxinas GTX-4,1 y GTX-3,2. No se encontraron correlaciones entre las características fenotípicas y genéticas de las cepas estudiadas.

Además, se investigó la variabilidad morfológica entre las cepas PFB37, PFB41, PFB42 y PFB38; para ello las células fueron teñidas con calcofluor y observadas al microscopio de epifluorescencia con excitación en el UV. Los resultados obtenidos evidenciaron que todas las

cepas chilenas estudiadas presentan las características típicas descritas para la especie, no observándose características morfológicas distintivas entre las cepas; sin embargo, detalles de algunas placas mostraron variación, tanto entre cepas como dentro de una misma cepa.

Por otro lado, se comparó el efecto combinado de la temperatura y la salinidad en el crecimiento y el contenido de toxinas paralizantes en las cepas PFB37, PFB41, PFB42 y PFB38 de *A. catenella*, cultivadas a dos temperaturas (10 y 15°C) y dos salinidades (15 y 35 psu). Las cepas mostraron un amplio rango de respuestas fisiológicas, observándose los mayores valores de tasa de crecimiento y densidad celular máxima a 15°C y 35 psu. Con respecto al contenido de toxinas, los mayores valores se observaron a 10°C y 35 psu para todas las cepas estudiadas. Todas las cepas mostraron una composición diferente de toxinas, siendo las principales neoSTX, GTX4-1, GTX3-2 and GTX5. Los resultados obtenidos demuestran que la temperatura y la salinidad afectan diferencialmente las respuestas fisiológicas de los genotipos tóxicos de *A. catenella*, lo que dificultaría la capacidad de predecir, en términos de intensidad, la ocurrencia de un potencial bloom.

Considerando el impacto social y económico provocado por *A. catenella* en Chile, se hace necesario contar con herramientas que permitan su rápida y efectiva detección y cuantificación. Con el objeto de desarrollar un test molecular altamente sensible, para la detección y cuantificación de cepas chilenas de *A. catenella* en muestras de terreno, se diseñó un ensayo molecular basado en la amplificación de una zona específica de la región ITS mediante la técnica de PCR en tiempo real. Para ello, se diseñaron partidores específicos y la cuantificación se realizó utilizando la curva estándar construida en base al ADN de cultivos de concentración celular conocida. La curva estándar mostró un coeficiente de correlación, entre los valores de ciclo umbral y el logaritmo de la concentración celular, igual a -0.96, observándose un límite mínimo de detección de una célula/mL.

Los resultados de esta investigación constituyen un aporte al conocimiento de la diversidad genética, morfológica y fisiológica de cepas chilenas de *A. catenella*, y al desarrollo de nuevas herramientas de detección, las que podrían ser utilizadas como método complementario en programas de monitoreo nacionales.