

Poboacións de fitoplancto tóxico e acumulación de toxinas en bivalvos

Juan Blanco

Doutor en Bioloxía pola Universidade de Santiago de Compostela.

Traballa no Centro de Investigacións Mariñas da Xunta de Galicia. As súas investigacións centráronse inicialmente na relación entre as poboacións de fitoplancto e os mexillóns de cultivo en batea, e especialmente nos aspectos relacionados coa proliferación de algas nocivas.

Interésanlle os mecanismos e a predición da acumulación de toxinas en invertebrados mariños, así como a detección rápida de toxinas emerxentes e reguladas pola UE. Participou no deseño e creación do Intecmar, e desenvolve con frecuencia estudos en colaboración coa Unidade de Biotoxinas dese organismo.

É membro dos consellos editoriais das revistas Toxins e Marine Drugs, e foi editor da Revista Galega dous Recursos Mariños.

Algunhas especies do fitoplancto producen toxinas que se acumulan nos bivalvos e poden producir intoxicacións nos consumidores. O desenvolvemento das poboacións destas especies depende de varios factores pero fundamentalmente do inóculo e do tempo en condicións favorables. O inóculo é o conxunto de células que inician a poboación e a súa orixe depende da estratexia de supervivencia e o ciclo de vida das distintas especies. Algunhas especies teñen no seu ciclo de vida formas de resistencia (quistes ou esporas) que lles permiten permanecer no sedimento durante os períodos nos que as condicións ambientais son desfavorables para o seu desenvolvemento.

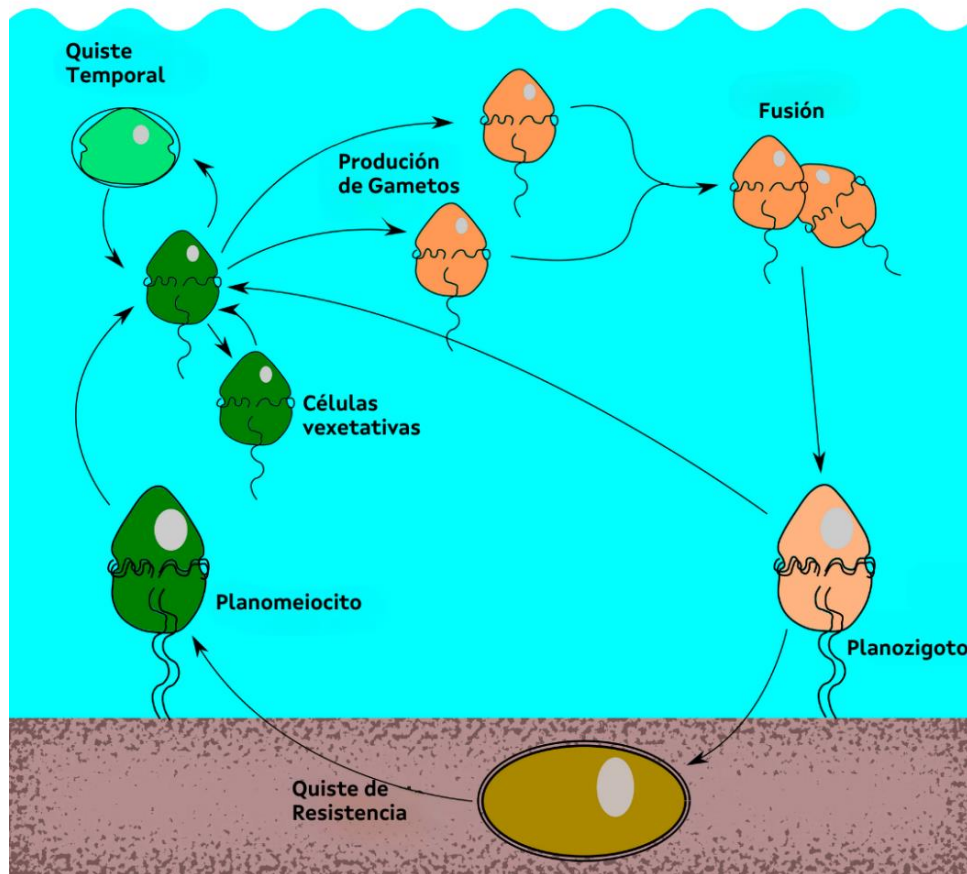


Figura 1 Ciclo de vida dun dinoflaxelado con formación de quistes de resistencia, células vexetativas e gametos.

Nestes casos, en épocas determinadas, os quistes ou esporas poden xerminar e dar lugar a células vexetativas que se reproducen e xeran proliferacións. Nas zonas nas que hai moitos quistes no sedimento o inóculo das poboacións pode ser grande e, por tanto, poden alcanzar biomásas grandes en períodos de tempo relativamente curtos. Outros factores poden afectar tamén á capacidade dos quistes para xerar un inóculo, como son a profundidade á que estean enterrados no sedimento, as súas características de xerminación ou as accións que se executan sobre o sedimento, tanto por parte do home (dragaxes, pesca de arrastre, marisqueo, ...) como por diversos organismos mariños (enterramento de crustáceos ou moluscos, inxestión por detritívoros, desestabilización por tubos de poliquetos, ...) [1,2]. *Alexandrium minutum*, que produce toxinas de tipo

PSP, ou *Lingulodinium polyedrum*, que produce yessotoxinas, son especies que utilizan os quistes como estratexia de supervivencia e as toxinas que producen e as súas poboacións son máis frecuentemente detectadas en áreas nas que os quistes eran abundantes nos sedimentos hai case 40 anos, como son os casos das rías de Camariñas, Cedeira ou Viveiro para *Alexandrium* [3] e Ares para *Lingulodinium*. Outras especies do fitoplancto non utilizan quistes ou esporas de resistencia para sobrevivir en épocas desfavorables e mantéñense na columna de auga. A cantidade dispoñible de inóculo nun momento determinado, dependerá, por tanto, da adversidade das condicións na época desfavorable e do tamaño das poboacións alcanzado na época favorable anterior.

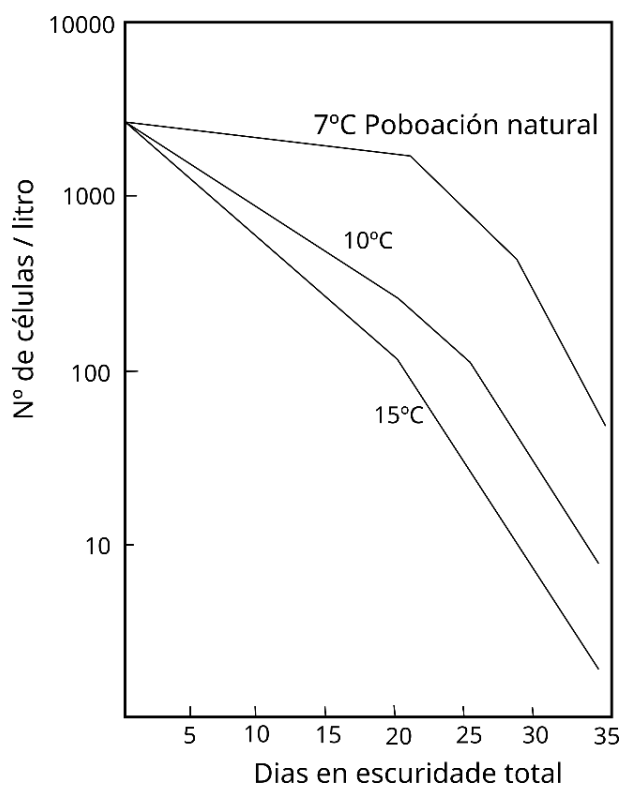


Figura 2 Supervivencia dunha poboación de *Prorocentrum* na escuridade en Chesapeake Bay. Con datos obtidos de Tyler & Seliger [4].

Unha vez que existe un inóculo na auga dunha zona as células vanse dividindo e xerando as poboacións sempre que se dean as condicións axeitadas para o seu crecemento e reprodución. Estas condicións son diferentes para cada organismo porque as especies que producen toxinas son moi diferentes unas doutras. En Galicia, a principal especie produtora de PSP é un dinoflagelado (*A. minutum*) que é basicamente fotosintético (autotrófico) e que se pode mover utilizando os seus flaxelos. A principal produtora de ASP, tamén é autotrófica, pero é unha diatomea, polo que non ten mobilidade. As principais produtoras de toxinas DSP son dinoflaxelados do xénero *Dinophysis*, que teñen mobilidade pero que non son máis que parcialmente autotróficas e se alimentan de ciliados con algas simbiotas das que os *Dinophysis* utilizan temporalmente os cloroplastos para fotosintetizar [5]. Para as especies autotróficas o medio mariño

presenta o inconveniente de que os dous requirimentos que teñen, a luz, como fonte de enerxía, e os sales minerais, como fonte de materia, non adoitan coincidir na vertical, de forma que a luz é abundante nas capas superficiais pero non a partir de una certa profundidade, mentres que os sales minerais son abundantes nas capas de fondo, que é onde a materia orgánica se oxida e os sales excretanse e rexeneran, pero son escasas nas capas superficiais, que é onde son consumidas polo fitoplancto que dispón de luz. Os sales poden chegar á superficie por varios mecanismos. O máis importante é o proceso físico do afloramento. Por efecto do vento a auga superficial afástase da costa e é substituída por auga de fondo rica en nutrientes que, desta forma, aflora ás capas iluminadas e pode soportar o crecemento das poboacións de fitoplancto autótrofo. A medida que nos afastamos da costa, o efecto do vento cambia e a auga deixa de desprazarse na horizontal e empeza a afundirse ao contactar con outras masas de auga xerando unha fronte de afloramento. As especies autótrofas poden crecer en toda a zona entre a costa e a fronte de afloramento e as que teñen mobilidade poden neutralizar, polo menos en parte, o afundimento da auga e irse acumulado na fronte de afloramento. As especies mixotróficas como *Dinophysis acuta* ou *D. acuminata* poden crecer na mesma zona utilizando o seu compoñente fotosintético e, ademais, se se producen acumulacións terán maiores posibilidades de atopar ás súas presas. O outro método principal para a adquisición de nutrientes é a migración vertical. As especies que teñen mobilidade poden nadar cara a capas profundas durante a noite, cargarse de nutrientes e, na mañá, ascender de novo e fotosintetizar cos nutrientes adquiridos. Dado que a capacidade de natación non é moi alta, este mecanismo ten máis importancia para organismos que habitan zonas relativamente superficiais.

A estratificación da capa de auga pode ser moi importante porque, con capas que se mesturan pouco entre elas, por unha banda, impide que se perdan células, tanto de dinoflaxelados coma de diatomeas, ás capas non iluminadas, e por outra banda fan que a distancia entre unha capa superficial con poucos nutrientes e outra de fondo máis rica neles, sexa pequena, o que pode ser aproveitado polas especies que teñen capacidade natatoria. As proliferacións de *Alexandrium minutum*, produtor de PSP, están asociadas á estratificación, habitualmente, pero non sempre, por efecto da saída de auga doce dos ríos [6-8].

Como pode deducirse destes mecanismos, a interacción cos bivalvos non é directa. Dado que os bivalvos crecen na costa, é necesario que as poboacións de fitoplancto desenvoltas cheguen ata eles para que as poidan inxerir. En desenvolvementos locais isto non é un problema pero en desenvolvementos nos sistemas de afloramento, si. Neses casos é necesario que as poboacións, independentemente de onde se desenvolveron, cheguen á costa. O máis habitual é que isto se produza por causa dun cambio na dirección do vento que faga que a auga que, durante o afloramento afostábase da costa, desprácese cara a ela e afúndase nas súas proximidades. Como sucede nas fronteas, os organismos que chegan a esa zona, se teñen capacidade de natación e son fototácticamente positivos, vanse acumulando, chegando a alcanzar concentracións altas. Nas rías, cando se dan estas condicións, a auga non se afunde nas

zonas de pouca profundidade, senón nas de profundidade media, xerándose fronteiras nestas zonas, que se desprazan coa marea e onde se producen acumulacións de organismos. Os bivalvos afectados por estas fronteiras poden acumular toxinas moi rapidamente porque a dispoñibilidade de organismos tóxicos pode ser moi alta.

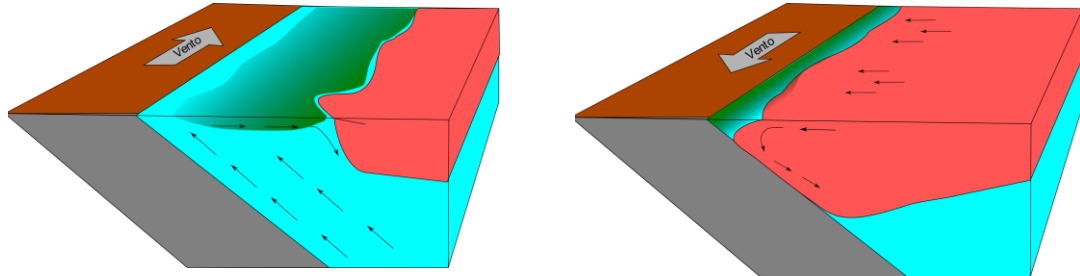


Figura 3 Afloramento e afundimento (downwelling) e a súa repercusión no desenvolvemento e aporte de poboacións de fitoplancto aos organismos da costa.

Os organismos bentónicos están ademais afectados por outros dous procesos que poden condicionar a súa capacidade de inxestión de poboacións tóxicas. Unha delas é a existencia de capas límite nas proximidades do fondo. Por efecto da fricción, a velocidade da auga en contacto co sedimento é practicamente cero e, aínda que vai aumentando coa distancia ao fondo, fórmase unha capa de espesor variable que non se mestura ben coa auga que corre por encima dela, co cal o intercambio de materiais, incluídas as células tóxicas, é limitado. O espesor da capa depende, entre outras cousas, da velocidade da corrente na capa superficial e das características da superficie do fondo (rugosidade, topografía, etc.). Diferenzas nesta capa poden levar a diferenzas en acumulación de toxinas na mesma especie, mesmo en zonas próximas. Outro proceso polo que ven afectados os organismos bentónicos é a sedimentación das poboacións tóxicas. Especialmente as diatomeas (como as que producen ácido domoico, ASP), que non teñen orgánulos para a natación, cando esgotan os nutrientes dispoñibles tenden a aumentar a súa velocidade de sedimentación e afúndense, podendo chegar ao fondo, o cal supón unha achega para os organismos que viven nel. No caso das toxinas ASP, isto combínase con que, nesas condicións de escaseza de nutrientes, o contido en toxina das células é moito maior que cando están en condicións óptimas de crecemento, co cal a achega de toxinas por esta vía aos bivalvos, pode ser moi relevante.

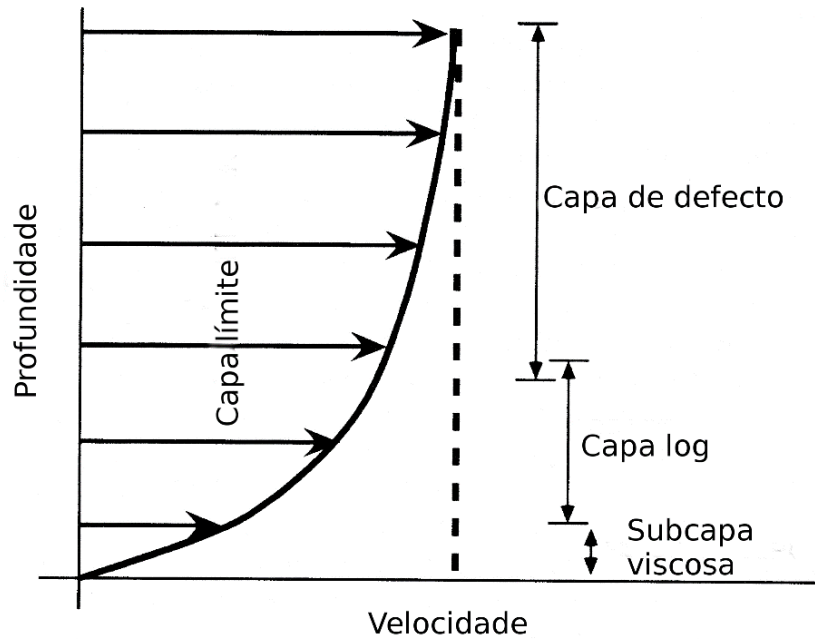


Figura 4 Estructura da capa límite no fondo mariño Modificado de Dame-[9].

Unha vez que as células tóxicas están dispoñibles para os bivalvos, estes retéñenas por filtración da auga que bombean a través das branquias. A taxa de filtración é variable coa especie, co contido e tipo de partículas en suspensión na auga e, en ocasións, coa toxina que conteñen as células. A filtración habitualmente ascende coa concentración de sólidos en suspensión pero ata un límite, especialmente con contidos de materia orgánica altos, a partir do cal se mantén ou diminúe. As taxas máximas varían moito coas especies, con, por exemplo, dende aproximadamente 1 L h^{-1} para o berberecho *Cerastoderma edule* ata máis de 30 L h^{-1} para a vieira *Pecten maximus*. Unha vez que as partículas son filtradas os bivalvos rexeitan unha parte delas utilizando a selección pre-inxestiva. O rexeitamento normalmente aumenta coa concentración de partículas e é maior para as partículas inorgánicas. Algúns bivalvos poden rexeitar determinadas especies de fitoplancto (tóxico ou non), pero as razóns polas que se fai a selección son, en xeral, descoñecidas e difíciles de pescudar. Unha ostra, por exemplo, demostrouse que acumulaba moi pouco ácido domoico porque rexeitaba as *Pseudo-nitzschia* tóxicas e non as non tóxicas, pero puido comprobarse que o criterio utilizado para o rexeitamento foi o tamaño das células e non o seu contido en toxina [10]. As especies acompañantes están tamén involucradas na efectividade da selección. Por exemplo, mexillóns aos que se achegaron células de *Alexandrium minutum* tóxico, practicamente rexeitárono na súa totalidade, mentres que cando se fixo en combinación con *Tetraselmis*, os mexillóns inxeriron unha parte importante das células achegadas. Algunhas toxinas, como as de tipo paralizante, poden afectar a algúns bivalvos (especies ou razas) evitando, por exemplo, que poidan enterrarse e, por tanto, afectando substancialmente a súa actividade e a posibilidade de acumulación de

toxinas. Todos estes procesos tenden a que a inxestión de células tóxicas sexa máxima a niveis medios de concentración na auga.

Unha vez que as células tóxicas son ingeridas poden verse novamente afectadas por un proceso de selección (selección post-ingestiva), que tamén depende das características das células. Ademais, dependendo do volume de partículas ingeridas, as células, procésanse en diferente grao. Con volumes elevados de células ingeridas moitas delas elimínanse intactas polo intestino co cal, se conteñen toxinas, estas nunca se incorporan aos tecidos do bivalvo.

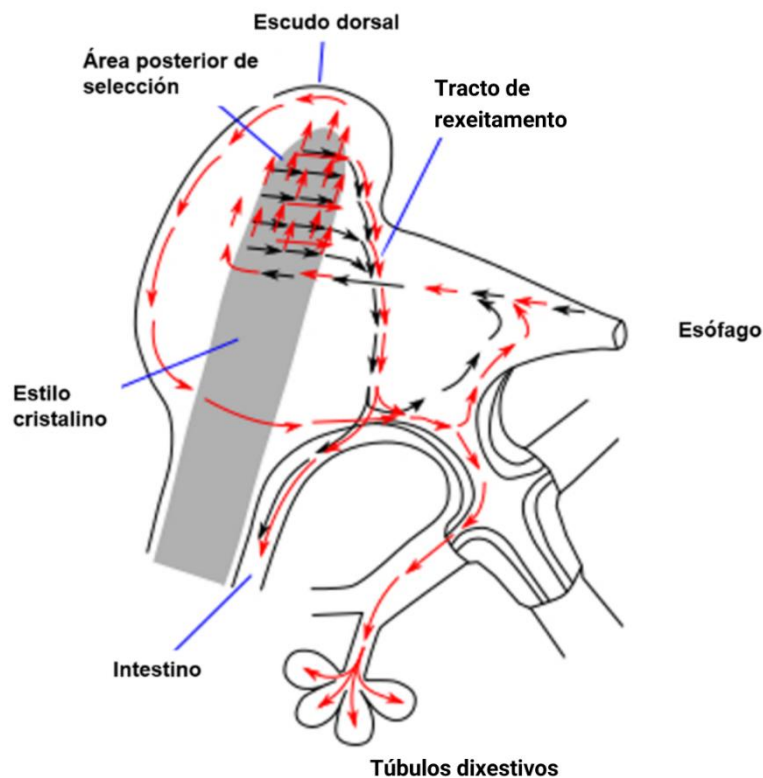


Figura 5. Esquema do dixestivo dun molusco. Modificado de Owen [11].

As toxinas liberadas durante a dixestión entran ás células da glándula dixestiva, desde onde poden transferirse a outros órganos ou tecidos. A presenza destes compostos tóxicos confire ao bivalvo unha toxicidade que depende da concentración das toxinas absorbidas e da potencia destas. Non todas as toxinas, mesmo do mesmo grupo de compostos, teñen a mesma toxicidade. As potencias tóxicas de cada toxina exprésanse co "factor de equivalencia de toxicidade" TEF (polas súas siglas en inglés, Toxicity Equivalence Factor), que se calcula en relación á toxina principal do grupo. Por causa das condicións no interior das células ou por actividade enzimática, as toxinas dun mesmo grupo poden transformarse unhas noutras. Cando unha toxina cun TEF baixo transfórmase noutra cun TEF alto, prodúcese un aumento de toxicidade aínda que realmente a concentración das toxinas segue sendo a mesma, o cal en ocasións crea

desconcerto nos produtores que ven como aumenta a toxicidade sen causas aparentes para iso. A toxicidade depende, como se comentou anteriormente, da concentración de toxina e do TEF, pero a concentración depende á súa vez da cantidade de toxina e do peso da vianda na que se distribúe. Por tanto, os cambios de peso sen perda de toxina, poden levar a cambios na toxicidade do bivalvo. Por exemplo, as toxinas de tipo PSP non se perden máis que minimamente coas postas, co cal unha perda da metade do peso corporal dun bivalvo tóxico durante a posta levaría practicamente a duplicar a súa toxicidade (sen practicamente alterar o seu contido en toxina). O mesmo pode suceder se se produce un adelgazamento por calquera outra causa. Ao contrario, cando un bivalvo crece e aumenta o seu peso, mantendo a cantidade de toxina que tiña, diminúe a súa toxicidade por efecto de dilución da mesma.

Os bivalvos tóxicos non permanecen tóxicos indefinidamente, senón que van perdendo toxinas e toxicidade paulatinamente mediante o proceso que habitualmente se coñece como depuración. Existen varias estimacións da depuración que, en ocasións, levan a producir algo de confusión. A depuración estritamente falando é a eliminación dos compostos tóxicos e, por tanto, do contido en toxina dos organismos. Frecuentemente, con todo, unha redución da toxicidade interprétase como depuración, aínda que, como xa se comentou, pode deberse a outras causas (transformación, ganancia de peso) que non teñen que ver coa eliminación dos compostos tóxicos. Ademais, en ocasións en situacións reais das explotacións, a redución da toxicidade interprétase como depuración cando, en realidade, é unha diminución da toxicidade acumulada, que ten, por unha banda, un compoñente de perda de toxicidade e, por outro, un compoñente de incorporación de toxinas debido ás células tóxicas que quedan na columna de auga.

A depuración é moi dependente da combinación especie-toxina [12]. Hai especies que depuran unha toxina moi rapidamente mentres que outras o fan de forma moito máis lenta. Probablemente o caso máis extremo en Galicia é a depuración do ácido domoico. O mexillón depura nun día aproximadamente o 80% do ácido domoico que ten acumulado [13], mentres que a vieira depura aproximadamente un 0.4% [14,15]. As especies infaunais teñen depuracións só lixeiramente inferiores á do mexillón. As toxinas DSP, ácido okadaico e dinophysistoxina2 (DTX2), esterifícanse con ácidos graxos (xerando acil-derivados, "DTX3") antes de depurarse dos bivalvos [16]. A maior parte das especies rapidamente producen estes acil-derivados das dúas toxinas, e depúranse practicamente á mesma velocidade. O mexillón, pola contra, esterifica a DTX2 en menor grao que o ácido okadaico e depúraa á metade da velocidade que o ácido okadaico [17]. Neste momento non se coñecen métodos eficaces de aceleración da depuración real, aínda que, tanto o traslado de moluscos a zonas nas que non estean presentes células tóxicas (reparqueo) como a achega de alimento, que produce un aumento da biomasa, poden acelerar a depuración aparente.

Referencias

1. Officer, C.B.; Lynch, D.R. Bioturbation, sedimentation and sediment-water exchanges. *Estuarine Coastal and Shelf Science* **1989**, *2*, 1-12.
2. Persson, A.; Rosenberg, R. Impact of grazing and bioturbation of marine benthic deposit feeders on dinoflagellate cysts. *Harmful Algae* **2003**, *2*, 43-50.
3. Blanco, J. The distribution of dinoflagellate cysts along the Galician (NW Spain) coast. *Journal of Plankton Research* **1995**, *17*, 283-302, doi:10.1093/plankt/17.2.283.
4. Tyler, M.A.; Seliger, H.H. Selection for a red tide organism: physiological responses to the physical environment. *Limnology and Oceanography* **1981**, *26*, 310-324.
5. Park, M.G.; Kim, S.; Kim, H.S.; Myung, G.; Kang, Y.G.; Yih, W. First Successful Culture of the Marine Dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *Aquatic Microbial Ecology* **2006**, *45*, 101-106, doi:10.3354/ame045101.
6. Blanco, J.; Mariño, J.; Campos, M.J. The first toxic bloom of *Gonyaulax tamarensis* detected in Spain (1984). In *Toxic dinoflagellates*, Anderson, D.M., White, A.W., Baden, D.G., Eds.; Elsevier: New York, 1985; p. 561.
7. Nogueira, E.; Bravo, I.; Montero, P.; Díaz-Tapia, P.; Calvo, S.; Ben-Gigirey, B.; Figueroa, R.I.; Garrido, J.L.; Ramilo, I.; Lluch, N.; et al. HABs in coastal upwelling systems: Insights from an exceptional red tide of the toxigenic dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Ecological Indicators* **2022**, *137*, 108790, doi:10.1016/j.ecolind.2022.108790.
8. Bravo, I.; Fraga, S.; Figueroa, R.I.; Pazos, Y.; Massanet, A.; Ramilo, I. Bloom dynamics and life cycle strategies of two toxic dinoflagellates in a coastal upwelling system (NW Iberian Peninsula). *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography* **2010**, *57*, 222-234, doi:10.1016/j.dsr2.2009.09.004.
9. Dame, R.F. *Ecology of Marine Bivalves: An Ecosystem Approach*; CRC Press: Boca Raton, USA, 1996; p. 254.
10. Mafra Jr, L.; Bricelj, V.; Ward, J. Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. II. Selective rejection. *Aquat. Biol.* **2009**, *6*, 213-226.
11. Owen, G. Observations on the Stomach and Digestive Diverticula of the Lamellibranchia: I. The Anisomyaria and Eulamellibranchia. *Quarterly Journal of Microscopical Science* **1955**, *s3-96*, 517-537.
12. Blanco, J. Accumulation of *Dinophysis* Toxins in Bivalve Molluscs. *Toxins* **2018**, *10*, 453.
13. Blanco, J.; Bermúdez de la Puente, M.; Arévalo, F.; Salgado, C.; Moroño, A. Depuration of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) contaminated with domoic acid. *Aquatic Living Resources* **2002**, *15*, 53-60, doi:10.1016/S0990-7440(01)01139-1.
14. Blanco, J.; Acosta, C.P.; Mariño, C.; Muñíz, S.; Martín, H.; Moroño, A.; Correa, J.; Arévalo, F.; Salgado, C. Depuration of domoic acid from different body compartments of the King Scallop *Pecten maximus* grown in raft culture and natural bed. *Aquatic Living Resources* **2006**, *19*, 257-265, doi:10.1051/alr:2006026
15. Blanco, J.; Acosta, C.P.; Bermúdez de la Puente, M.; Salgado, C. Depuration and anatomical distribution of the amnesic shellfish poisoning (ASP) toxin domoic acid in the king scallop *Pecten maximus*. *Aquat. Toxicol.* **2002**, *60*, 111-121, doi:10.1016/S0166-445X(01)00274-0.
16. Rossignoli, A.E.; Fernández, D.; Regueiro, J.; Mariño, C.; Blanco, J. Esterification of okadaic acid in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Toxicon* **2011**, *57*, 712-720.
17. Blanco, J.; Arevalo, F.; Correa, J.; Morono, A. Lipophilic Toxins in Galicia (NW Spain) between 2014 and 2017: Incidence on the Main Molluscan Species and Analysis of the Monitoring Efficiency. *Toxins* **2019**, *11*, 23, doi:10.3390/toxins11100612.