



Facultad de Ciencias
Escuela Biología Marina

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Jorge Navarro Azócar

Instituto Ciencias Marinas y Limnológicas

Facultad de Ciencias

**Respuesta fisiológica y dinámica de intoxicación/detoxificación de
dos poblaciones del bivalvo *Choromytilus chorus* con diferente historial de
exposición al veneno paralizante de molusco (VPM)**

**Tesis de Grado presentada como parte de
los requisitos para optar al grado de
Licenciado en Biología Marina título
Profesional de Biólogo Marino**

Alejandro Felipe Ortiz Castro

Valdivia-Chile

2013

Índice

| | |
|---|-----------|
| 1.- Resumen..... | 4 |
| 2.- Abstract | 5 |
| 3.- Introducción | 6 |
| 3.1.- Objetivos generales | 8 |
| 3.2.- Objetivos específicos..... | 9 |
| 4.- Metodología | 10 |
| 4.1.- Obtención de muestras | 10 |
| 4.1.1.- Aclimatación..... | 11 |
| 4.2.- Diseño experimental..... | 11 |
| 4.2.2.- Sedimento | 12 |
| 4.3.- Análisis de toxinas..... | 12 |
| 4.4.- Mediciones Fisiológicas | 13 |
| 4.4.1.- Tasa de Aclaramiento | 13 |
| 4.4.2.- Eficiencia de Absorción | 15 |
| 4.4.3.- Consumo de Oxígeno | 16 |
| 4.4.4.- Tasa de Excreción..... | 16 |
| 4.4.5.- Crecimiento Potencial | 17 |
| 4.5.- Estandarización y transformación de variables | 18 |
| 4.6.- Análisis Estadístico | 18 |
| 5.- Resultados..... | 19 |
| 5.1.- Dinámica de Intoxicación/Detoxificación..... | 19 |
| 5.2.- Mediciones Fisiológicas | 20 |
| 5.2.1.- Tasa de Aclaramiento | 20 |
| 5.2.2.- Tasa de Ingestión Total (TIT)..... | 23 |
| 5.2.3.- Tasa de Ingestión Orgánica (TIO)..... | 23 |
| 5.2.4.- Eficiencia y Tasa de Absorción..... | 26 |
| 5.2.5.- Consumo de Oxígeno | 29 |

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| 5.2.6.- Tasa de Excreción..... | 31 |
| 5.2.7.- Crecimiento Potencial | 33 |
| 6.- Discusión..... | 36 |
| 7.- Referencias | 41 |

1.- Resumen

Ejemplares de *Choromytilus chorus* con diferente historial de exposición al VPM fueron sometidos a una dieta tóxica compuesta de 50 % de *Alexandrium catenella* (cepa ACC02), 10% *Isochrysis galbana* y 40% sedimento durante los primeros 12 días del período experimental y una dieta control compuesta por 60 % de *Isochrysis galbana* y 40 % de sedimento durante el periodo de detoxificación (16 días). Este diseño experimental fue aplicado a ejemplares provenientes de Corral (sin historial de exposición al VPM) y en animales provenientes de Melinka (con historial de exposición al VPM). La exposición de individuos de *Choromytilus chorus* de las poblaciones de Corral y Melinka a un período de 12 días de intoxicación con *Alexandrium catenella*, resultó en la acumulación de saxitoxina a niveles superiores del límite regulatorio establecido para el consumo humano (80 µg de STXeq/100 g), alcanzando valores más altos los animales de Corral (292 µg STXeq/100 g de tejidos). Melinka alcanzó 163 µg de STXeq/100 g de tejido en el período de intoxicación.

La conducta alimentaria que se observa para ambas poblaciones, sólo muestra un leve efecto negativo en la tasa de aclaramiento (TA) en las primeras horas de exposición a *A. catenella*, recuperándose después de un periodo de tiempo. Según los resultados obtenidos, se puede afirmar que la capacidad de aclimatación de *C. chorus* a la dieta tóxica permite a los individuos con diferente historial de exposición, acumular toxina sobre el límite regulatorio (80 de SXT/equiv 100 g) y a su vez disminuir la concentración de saxitoxina en sus tejidos en un período corto de tiempo. Estas características le permitiría a *C. chorus* tener la cualidad de ser una especie centinela a la hora de detectar blooms del dinoflagelado *A. catenella* en el ambiente natural. También permitiría que bancos naturales y centro de cultivo de *C. chorus* expuestos a marea roja (VPM), puedan recuperarse después de un corto periodo de tiempo de haber finalizado el evento tóxico, lo cual representa un gran beneficio para la especie y para el hombre, debido a que *Choromytilus chorus* es un recurso de importancia comercial en la zona sur-austral de nuestro país.

2.- Abstract

Individuals of the bivalve *Choromytilus chorus* with different VPM history exposure underwent a toxic diet composed of 50% of *Alexandrium catenella* (strain ACC02), 10% *Isochrysis galbana* and 40% sediment during the first 12 days of the experimental period. Additionally, a diet composed by 60% of *Isochrysis galbana* and 40 % sediment was used as control during the detoxification period (16 days).

The above experimental design was used for *C. chorus* individuals collected from Melinka and Corral areas where organisms have and have not a VPM history, respectively. Prolonged exposures of *C. chorus* to *A. catenella* for a period of 12 days resulted in the accumulation of higher levels saxitoxin (STX) than those limits accepted for human consumption (80 ug STXeq /100 g). Individuals collected from Corral reached higher accumulation levels of STX in their soft tissue than those collected from Melinka area showing STX levels of 292 and 163 ug STXeq/100 g, respectively.

The feeding behavior observed for both populations, indicated only a slight negative effect over their clearance rates (CR) during the first hours of *A. catenella* exposure, recovering their CR capacity after a time period. According to our results, we can say that the acclimation capacity of *C. chorus* to the toxic diet allows individuals with different exposure history to accumulate STX toxin above the regulatory limit (80 of SXT / equiv 100 g) and in turn decrease the concentration of this toxin in their tissues after a short period of time. This capacity allows to *C. chorus* have the quality of being a sentinel species to detect *A. catenella* blooms in the natural environment. Additionally, allows natural banks and culture centers of *C. chorus* exposed to red tide (VPM) to recover from the toxic event after a short period of time which is a great benefit to both *C. chorus* and humans, because this bivalve is a commercially important resource in the southern Chile.

3.- Introducción

Los primeros focos de marea roja a nivel mundial se registran en el año 1970, principalmente en aguas templadas del hemisferio norte y en determinados países de Europa, América central y Norteamérica. Transcurridos los años se han obtenido registros de una alta expansión de especies de microalgas productoras de este tipo de floraciones nocivas hacia el hemisferio sur, tales como Nueva Zelanda, Argentina, Australia, Nueva Guinea y Chile (Orlova et al., 2002). En Chile los principales focos de marea roja han sido detectados en los canales y fiordos de la Patagonia chilena (Guzmán et al., 2002), donde existen antecedentes de los primeros registros del dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella* en 1972, en la zona sur de Magallanes (Lembeye et al., 1975). Transcurrieron varios años antes de obtener nuevos registros de *A. catenella* y desde 1991 en adelante se han registrado floraciones nocivas con mayor frecuencia, las cuales han ampliado su distribución desde la XII Región hacia la X Región de los Lagos (Guzmán et al., 2002).

El aumento en la distribución geográfica que ha presentado esta especie, ha tenido un fuerte impacto en zonas costeras de producción artesanal e industrial de moluscos, provocando una perturbación sanitaria en estas zonas, lo que conlleva un problema socioeconómico directo, ya que estos lugares basan gran parte de su producción económica en los productos marinos, ya sea extraídos de bancos naturales o cosechados desde sistemas de cultivos.

La literatura existente sugiere que la proliferación de *A. catenella*, se debe a un grupo de factores que actúan como catalizadores de floraciones algales nocivas, ya sea a partir de quistes o de crecimiento poblacional los cuales se ven beneficiados al existir condiciones ambientales favorables, como temperatura, salinidad, nutrientes, estratificación térmica, corrientes y la influencia del viento (Guzmán et al., 1975, Amorín et al., 2002). Se ha observado que frente a temperaturas altas por aumento de insolación, baja salinidad, estabilidad de la columna de agua asociada a vientos muy débiles, aporte de nutrientes, más el comportamiento del organismo, son los factores que dan origen a la proliferación y dispersión de este tipo de floraciones algales nocivas (Guzmán and Campodonico, 1978).

Independientemente si causa o no coloración en la columna de agua, se utiliza el término Floraciones Algales Nocivas o FAN, para referirse a aquellas floraciones causadas

por organismos productores de toxinas, que provocan un efecto negativo sobre la salud humana, la acuicultura, el turismo u otra actividad económica (Cassis et al., 1999). La coloración no es un indicador de toxicidad, aunque puede indicar concentración celular, ya que a mayor concentración celular podría aumentar la coloración de la columna de agua.

Dentro de los eventos FAN, se conocen distintos tipos de toxinas producidas por diferentes especies de microalgas, de las cuales se puede mencionar el Veneno Diarreico de Molusco (VDM), Veneno Amnésico de Molusco (VAM), Veneno Neurotóxico de molusco (VNM), Veneno de ciguatera, Veneno de cianobacterias y el Veneno Paralítico de Molusco (VPM). Este último está asociado a tres géneros de dinoflagelados, *Alexandrium*, *Gymnodinium* y *Pyrodinium* (Lehane, 2000). Dentro de los componentes tóxicos del VPM, el de mayor grado de toxicidad corresponde a la saxitoxina, que se describe como una potente toxina neuromuscular soluble en agua, que actúa en vertebrados, bloqueando el flujo de iones sodio, afectando la membrana celular, interrumpiendo la transmisión de señales y finalmente causando una parálisis (Lehane, 2000).

Los principales envenenamientos registrados a nivel mundial por consumo de mariscos con VPM, han sido causados por dinoflagelados pertenecientes al género *Alexandrium*. En Chile el principal productor de la saxitoxina es *Alexandrium catenella* (Guzmán et al., 1978, Hernández and Gárate et al., 2006), dinoflagelado que se caracteriza por formar cadenas lineales o circulares de hasta 30 o más células (Guzmán et al., 1978)

Entre el hombre y este tipo de organismo (dinoflagelados tóxicos), existen intermediarios tales como los bivalvos, especies con alimentación suspensívora que acumulan las toxinas en su glándula digestiva y en menor concentración en otros tejidos, los cuales al ser consumidos por el hombre, dependiendo de la concentración, afectan su salud. Por normativa general de la mayoría de los países, el nivel máximo de saxitoxina permitido para consumir mariscos es de 80 µg STX eq/100 g de tejido. Sobre este nivel se determina veda para el sector afectado.

Según la literatura, la saxitoxina producida por *A. catenella* causa efectos sub-letales en los bivalvos marinos, tales como el cierre de valvas, menor capacidad de filtración, incremento en la secreción de mucus, disminución de las tasas metabólicas y una actividad cardiaca errática (Shumway et al., 1985). La contaminación de los bivalvos es facilitada por su rol trófico como consumidores primarios, ya que este tipo de microalgas se encuentran

en la oferta de alimento disponible en el medio ambiente (seston), la cual es consumida gracias a la alta capacidad de bombeo que poseen los organismos filtradores y a su vez por la insensibilidad frente al consumo de la toxina de VPM que muestran algunas especies (Bricelj and Shumway, 1998; Bricelj et al., 2005).

En el presente trabajo de tesis se realizaron mediciones en la especie *Choromytilus chorus*, cuya distribución latitudinal va desde Pacasmayo (Perú) hasta el Estrecho de Magallanes y Tierra del Fuego (Chile) (Carcelles and Williamson, 1951; Olsson, 1961; Álamo and Valdivieso, 1987). Esta especie habita entre los 4 a 20 m de profundidad, adherido a sustratos duros y en bancos de arena. Se alimenta principalmente filtrando detritus y fitoplancton. Es depredado por crustáceos (la jaiba *Cancer edwardsi* y la jaiba reina *Cancer coronatus*), moluscos (el caracol rubio *Xantochorus cassidiformis* y *Acanthina monodon*) y el hombre.

Considerando la importancia ecológica y económica de *Choromytilus chorus*, es de gran interés conocer la respuesta fisiológica que presenta frente a la presencia del dinoflagelado tóxico *A. catenella* en su dieta. Se compararon dos poblaciones con diferente historial de exposición al Veneno Paralizante de Moluscos (VPM), la primera población proveniente de un banco natural de la localidad de Corral, Valdivia, la cual nunca ha estado expuesta al dinoflagelado tóxico *A. catenella*. La segunda población proviene de Isla Melinka, sector Concoto, región de Aysén, la cual ha estado en constante exposición a VPM. Por medio de este estudio se desea conocer si existen diferencias entre las respuestas fisiológicas de estas dos poblaciones con diferente historial de exposición a la toxina paralizante.

3.1.- Objetivos generales

- Comparar la respuesta fisiológica de dos poblaciones de *Choromytilus chorus* con diferente historial de exposición al VPM y expuestas a una dieta contaminada con el dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella*.

3.2.- Objetivos específicos

- Evaluar la adquisición de energía cuantificando la capacidad de filtración y de absorción de las dos poblaciones en estudio.
- Estimar el gasto energético mediante la cuantificación de la tasa de excreción y del consumo de oxígeno en individuos de las dos poblaciones de *C. Chorus*.
- Determinar el efecto que tiene una dieta conteniendo VPM sobre poblaciones con diferente historial de exposición a esta toxina.

4.- Metodología

4.1.- Obtención de muestras

Se colectaron muestras de *Choromytilus chorus* de bancos naturales de dos localidades (**Fig. 1**). Los primeros ejemplares se obtuvieron de la bahía de Corral, Valdivia ($39^{\circ} 53'S$; $73^{\circ} 26'O$) Región de Los Ríos, población sin historial de exposición al veneno paralizante de molusco (VPM). La segunda población proviene del Sector Concoto, Isla Melinka ($43^{\circ} 52'S$; $73^{\circ} 45'O$), región de Aysén, donde existen registros frecuentes de eventos de Floraciones Algales Nocivas (FAN) con presencia del dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella*. Para ambas localidades se extrajeron ejemplares de *Choromytilus chorus* con longitudes entre 50 a 55 mm.

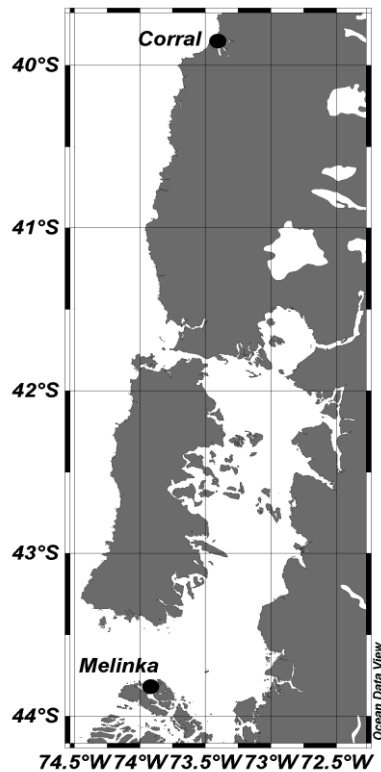


Figura 1: Lugares geográficos donde fueron colectados los ejemplares de *C. chorus*

4.1.1.- Aclimatación

Los animales sin epibiontes se mantuvieron por 7 días en acuarios de aclimatación. Estas bateas estaban provistas de agua de mar sin filtrar, con una salinidad de 30 psu, 14°C y con aireación constante. Se alimentaron con *Isochrysis galbana* periódicamente y se realizaron cambios de agua cada 48 horas.

4.2.- Diseño experimental

Se instalaron 7 acuarios, correspondiente a tres réplicas de bivalvos contaminados y a cuatro réplicas de controles (**Fig. 2**). Cada acuario contenía 25 animales, los que fueron mantenidos a una salinidad de 30 psu y una temperatura de 14°C. Los acuarios se mantuvieron con aireación constante y las dietas experimentales se entregaron en forma continua mediante bombas peristálticas que permitieron entregar de forma homogénea las dietas durante el transcurso del experimento. Las dietas se mantuvieron homogeneizadas mediante agitadores magnéticos. Se utilizaron dos tipos de dietas, una contaminada y otra control. La primera estuvo compuesta en un 50% por *A. catenella*, 10% *Isochrysis galbana* y 40% sedimento. La dieta control estuvo compuesta en un 60% por *Isochrysis galbana* y un 40% de sedimento. Las dos dietas (contaminada/control), representan el 2 % del peso corporal del animal (2 mg aprox).



Figura 2: Acuarios contaminados y controles, utilizados para mantener a los ejemplares durante los 28 días experimentales

4.2.1.- Cultivos de microalgas

Isochrysis galbana se cultivó con agua de mar filtrada a 0,45 μm y autoclavada, para esto se utilizaron cámaras de cultivo a una temperatura constante de 25° C, una salinidad de 30 psu y un fotoperiodo de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad. Se aplicó el medio de cultivo f/2 (Guillard, 1975).

Alexandrium catenella, cepa ACC02, se cultivó con agua de mar filtrada a 0,45 μm y autoclavada, a una salinidad de 30 psu, una temperatura de 14°C y con un fotoperíodo de 14 horas luz y 10 oscuridad. Se utilizó el medio de cultivo L1 (Guillard, 1995) (**Fig. 3**).

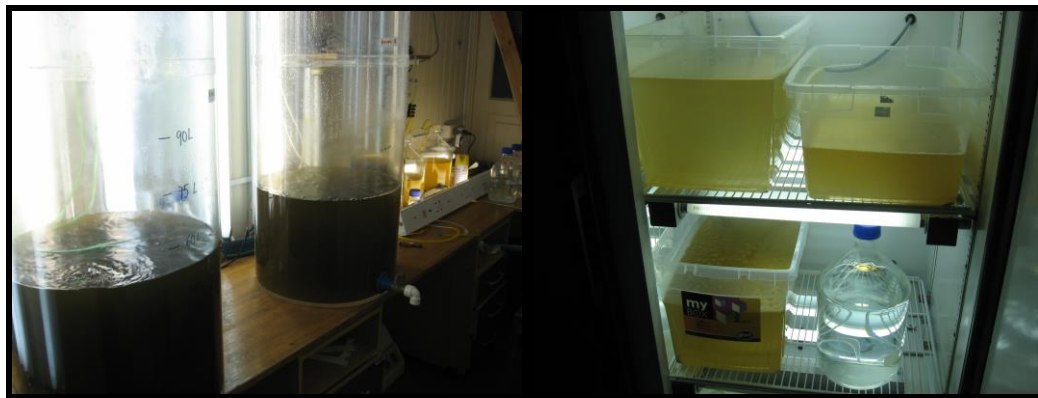


Figura 3: Kawel de cultivo de *I. galbana* y cajas de cultivo de *A. catenella*

4.2.2.- Sedimento

El sedimento fino utilizado en la preparación de las dietas fue colectado desde el primer centímetro del estrato intermareal de la planicie mareal de Yaldad, tamizado a 40 μm , lavado con agua destilada y quemado en la mufla por un período de 12 horas a 500°C para eliminar su fracción orgánica.

4.3.- Análisis de toxinas

Se realizó el análisis de toxinas para cada población, para lo cual se extrajo uno o dos individuos por cada acuario, dependiendo del contenido de carne para poder tener un tamaño de muestra adecuado para el análisis electrofisiológico. Los análisis de toxinas se

realizaron sobre ejemplares muestreados los días 0, 2, 5, 8, 12, 13, 16, 20, 24 y 28 del experimento, frecuencia que se basó en la asunción que la mayor acumulación de toxinas se produciría durante los primeros días de exposición. Se registró la longitud y se obtuvo el peso húmedo de los tejidos blandos del bivalvo, el que debe ajustarse a un mínimo de 3 gramos para que se pueda determinar la concentración de saxitoxina. La concentración de saxitoxina en los tejidos blandos de los animales fue determinada mediante análisis del Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de Chile, donde las muestras fueron sometidas a un ensayo funcional electrofisiológico que mide el efecto bloqueador directo de saxitoxinas (STX) sobre las corrientes de sodio a través de canales de sodio expresados establemente en una línea celular en cultivo por técnica patch clamp (Vélez et al., 2001). La concentración equivalente de STX se estima por medio de curvas de calibración que se obtienen con perfusión externa de concentraciones conocidas de STX purificada (DFA).

4.4.- Mediciones Fisiológicas

El período experimental fue de 28 días para cada población, Corral y Melinka, el cual se dividió en dos períodos, el primero de 12 días de intoxicación y el segundo de 16 días de detoxificación. Durante el experimento se realizaron mediciones fisiológicas (tasa de aclaramiento, consumo de oxígeno, eficiencia de absorción, tasa de excreción) durante días específicos (0, 1, 2, 3, 5, 8, 12, 13, 16, 20, 24 y 28), que permitieron conocer la respuesta fisiológica de *Choromytilus chorus* frente a una dieta tóxica que contiene al dinoflagelado *A. catenella* y conocer la variación que presentan estas variables fisiológicas en el transcurso del periodo de intoxicación y detoxificación.

4.4.1.- Tasa de Aclaramiento

Se define como el volumen de agua liberado de partículas suspendidas por unidad de tiempo (Bayne *et al.*, 1985). La disminución de la densidad de partículas en cada acuario experimental (Widdows, 1985) se midió individualmente en cámaras de 1,5 litros (sistema estático), con agua de mar filtrada a 0,45 μm , 30 psu y 14°C, con intervalos de 30 minutos durante 3 horas (**Fig. 4**). Se mantuvieron 3 individuos en cámaras con dieta contaminada y

4 individuos con dieta control. Además se mantuvieron 2 cámaras control (sin animales) recibiendo uno dieta contaminada y el otro dieta control, para corregir el error por sedimentación o por división celular.

Se extrajeron 15 ml de cada acuario experimental y de los controles para su análisis,

Para el cálculo de Tasa de Aclaramiento se utilizó un contador de partículas (Beckman Z2) equipado con un tubo de recuento de 100 μm de apertura y se utilizó la fórmula de Coughlan (1969):

$$\text{TA (L/h)} = (\text{Vol. Agua Exp. (L)}) \times (\text{Ln } C_1 - \text{Ln } C_2) / \text{Intervalo de Tiempo (h)}$$

Donde C_1 corresponde a la concentración del acuario control y C_2 a la concentración muestreada después de transcurrido el intervalo de tiempo que se estimó para las mediciones.

A partir de Tasa de aclaramiento también se obtuvo la Tasa de Ingestión Total (TIT) y Tasa de Ingestión Orgánica (TIO), expresadas en mg/h, lo que se obtuvo con las siguientes fórmulas:

$$\text{TIT (mg/h)} = (\text{TA} \times \text{mg seston})$$

$$\text{TIO (mg/h)} = (\text{TIT} \times \% \text{ Seston Orgánico} / 100)$$



Figura 4: Cámaras utilizadas para medir tasa de aclaramiento

4.4.2.- Eficiencia de Absorción

Para estimar la eficiencia de absorción se empleó el método de Conover (1966), el cual asume la absorción exclusiva de la materia orgánica del alimento. Para el análisis se colectan las heces, las cuales son depositadas en filtros, previamente preparados, los cuales se secan por 24 horas a 100°C, obteniendo el peso seco del filtro más heces (**Fig. 5**). Posteriormente los filtros pasan a una mufla, en la cual están por 3 horas a una temperatura de 450°C. Los filtros se mantienen durante 15 minutos en un desecador, para ser pesados nuevamente obteniendo el peso inorgánico de las heces, el cual se relaciona con el peso seco total para obtener la fracción orgánica. De acuerdo a los valores obtenidos en esta relación, se incorporan en la siguiente fórmula:

$$EA = [(A-F) / (1-F) \times A] \times 100$$

En donde A es la fracción orgánica del alimento y F es la fracción orgánica de las heces.



Figura 5: Set de filtración, utilizado para fijar las heces de *C. chorus*, para eficiencia de absorción.

4.4.3.- Consumo de Oxígeno

El consumo de oxígeno se midió individualmente mediante el método Micro-Winkler. Para esto se utilizaron cámaras de incubación con un volumen conocido de agua de mar filtrada a 0.45 μm , salinidad 30 psu y 14°C (**Fig. 6**). Adicionalmente se utilizó una cámara control sin animal para conocer la concentración de oxígeno inicial. Las cámaras fueron cerradas herméticamente e incubadas por un período de 2 horas. Posteriormente se extrajo una muestra para conocer la concentración de oxígeno final.

Para la cuantificación del volumen de oxígeno consumido se desarrollaron las siguientes fórmulas:

$$\text{VO}_2 \text{ (mg/h)} = [4 \times (\text{Título Control} - \text{Título Exp.}) \times \text{Volumen (L)}] / \text{Tiempo (h)}$$

Luego se aplicó un factor de conversión para transformar de mg a ml de oxígeno por hora:

$$\text{VO}_2 \text{ (ml/h)} = \text{VO}_2 \text{ (mg/h)} \times 0,7$$

Con esto se obtuvo el consumo de oxígeno que obtiene cada ejemplar de *C. chorus* después del período de incubación.

4.4.4.- Tasa de Excreción

Para la determinación de la tasa de excreción se utilizó el método colorimétrico de Solorzano (1969), el cual consiste en cuantificar el amonio ($\text{NH}_4\text{-N}$), principal producto de la excreción de moluscos. Para este análisis se utilizaron las mismas cámaras de incubación utilizadas para el consumo de oxígeno (**Fig. 6**). Para determinar la cantidad de amonio excretado por los ejemplares se preparó un set de soluciones con concentraciones de amonio conocida (curva de calibración). Las muestras tomadas desde las cámaras, fueron medidas en un espectrofotómetro modelo Optizen POP a una longitud de onda de 640 nm y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{TE } (\mu\text{g NH}_4\text{-N/ind/h}) = [(28 \times C \times V) / T]$$

Donde **28** es una constante que representa el peso atómico del Nitrógeno contenido en la solución estándar de sulfato de amonio, **C** es la concentración de NH₄-N/h (μM), **V** es el volumen experimental en litros y **T** es el tiempo de incubación en horas.



Figura 6: Cámaras de incubación utilizadas para medir el consumo de oxígeno y tasa de excreción de *C. chorus*.

4.4.5.- Crecimiento Potencial

El Crecimiento Potencial es un indicador fisiológico del estado de condición de un organismo, en la cual se relaciona la cantidad de energía que puede ser canalizada a la formación de tejido somático y reproductivo. Es aquí donde se ve la relación que se produce entre la tasa de absorción frente a la sumatoria de las tasas de consumo de oxígeno y de excreción, todas expresadas en Joules.

Para cuantificar el crecimiento potencial se utilizó la fórmula de Widdows (1985), donde se incorporan los datos de absorción, respiración y excreción):

$$\text{CP (Joules)} = A - (R + E)$$

Donde: A es la tasa de absorción, R el consumo de oxígeno y E la tasa de excreción, todas expresadas en Joules/h.

4.5.- Estandarización y transformación de variables

Las tasas fisiológicas fueron estandarizadas a 1 g de peso seco de los individuos de ambas poblaciones, lo cual se realizó mediante la ecuación de Bayne et al. (1987):

$$Y_s = (W_s / W_e)^b Y_e$$

Donde: Y_s = la tasa fisiológica para un animal de peso estándar, W_s = el peso estándar del animal, W_e = el peso observado del animal, Y_e = la tasa fisiológica sin corregir (medida), b = el exponente del peso para la tasa fisiológica correspondiente. Los exponentes de peso para tasa de aclaramiento, consumo de oxígeno y tasa de excreción fueron 0.57, 0.63 y 0.68 respectivamente (Navarro, 1988).

4.6.- Análisis Estadístico

Se utilizó el programa Statistica 7.0, desarrollando los test de normalidad (Shapiro-Wilks) y homocedasticidad (Levene's), con un grado de significancia del 5%. No siendo posible realizar ANOVA de dos vías, debido a que no se cumplían los supuestos de normalidad ni homocedasticidad, se realizó ANOVA de una vía y posteriormente el test de Tuckey.

5.- Resultados

5.1.- Dinámica de Intoxicación/Detoxificación

Los ejemplares de *Choromytilus chorus* provenientes de Corral alcanzaron mayores concentraciones de toxina paralizante que los ejemplares de Melinka (**Fig.7**), tanto en el período de intoxicación, como de detoxificación. Los individuos de Corral alcanzaron la mayor concentración (292 μg STXeq/100 g de tejidos) el día 5 del periodo de intoxicación, sobrepasando el límite regulatorio establecido para el consumo humano (80 μg de STX eq/100 g de tejidos). Al final del período de detoxificación los ejemplares de Corral alcanzaron concentraciones inferiores al límite regulatorio (40 μg de STX eq/100 g de tejido). *Choromytilus chorus* proveniente de Melinka alcanzó la mayor concentración (163 μg de STXeq/100 g de tejido) el día 12 del período de intoxicación. Durante el período de detoxificación, la concentración de toxinas en los animales de Melinka fluctuó entre 50 μg de STX eq/100 g de tejido (día 16) y 0 μg de STX eq/100 g de tejido (día 20) a diferencia de los ejemplares de Corral, que durante los días 24 y 28 aún muestran presencia de la saxitoxina en los tejidos (12 y 18 μg de STX eq/100 g, respectivamente). La figura 7 muestra la gran variabilidad individual en la acumulación de toxinas por parte de las dos poblaciones estudiadas, Así, a pesar de las diferencias en la concentración de toxinas de las poblaciones de Corral y Melinka, estas no fueron significativamente diferentes ($p>0,05$), tanto para el periodo de intoxicación como de detoxificación.

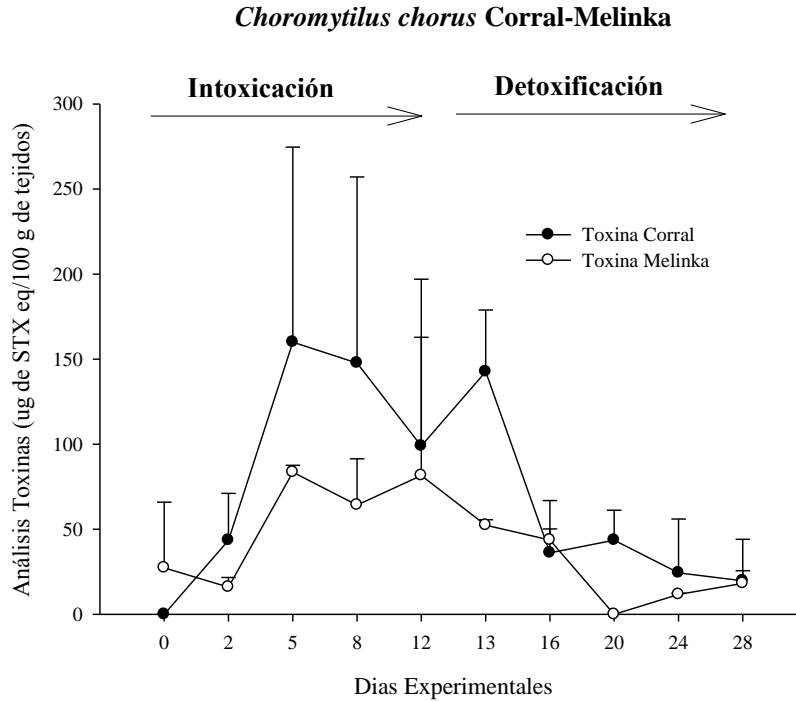


Figura 7: Análisis de toxinas de tejidos de *Choromytilus chorus* provenientes de Corral y Melinka.

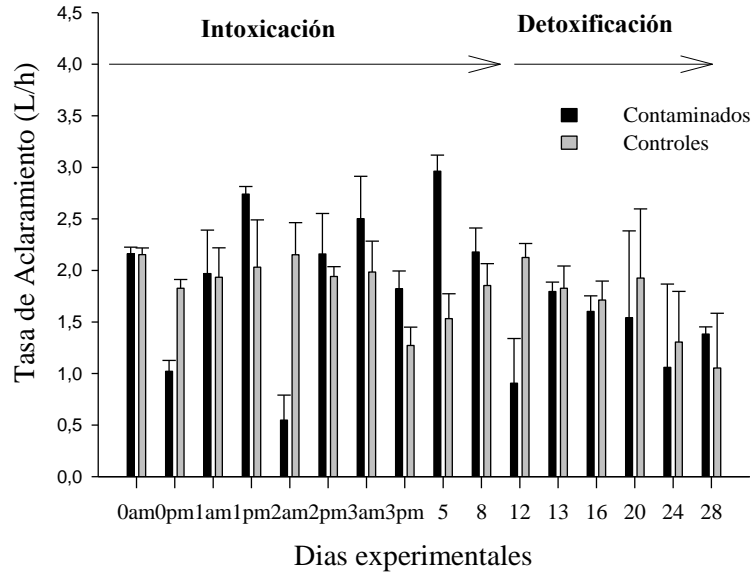
5.2.- Mediciones Fisiológicas

5.2.1.- Tasa de Aclaramiento

Choromytilus chorus proveniente de Corral presentó una mayor tasa de aclaramiento que la población de Melinka durante el período de intoxicación, con valores que fluctuaron entre 0,55 y 2,96 L h⁻¹ con un promedio de 1,91±0,78 L h⁻¹, en comparación a los individuos de Melinka que presentaron valores entre 0,72 y 2,96 L h⁻¹ (**Fig. 8**), con un promedio de 1,57±0,65 L h⁻¹. En el periodo de detoxificación, los ejemplares contaminados de la población de Melinka presentaron un promedio de 1,73±0,37 L h⁻¹, valor más alto que el mostrado por los individuos contaminados de la población de Corral (1,50±0,31 L h⁻¹), aunque sin ser significativamente diferentes (p>0,05), tal como ocurrió durante la fase de intoxicación. Los ejemplares de Corral expuestos a la dieta control (*Isochrysis galbana* y

sedimento) presentaron una tasa de aclaramiento promedio de $1,89 \pm 0,21 \text{ L h}^{-1}$ durante el periodo de intoxicación, mayor al valor presentado por los ejemplares de Melinka, que fue $1,48 \pm 0,35 \text{ L h}^{-1}$. También en el periodo de detoxificación, los individuos controles de Corral alcanzaron un promedio levemente mayor que los de Melinka ($1,48 \pm 0,37 \text{ L h}^{-1}$ y $1,39 \pm 0,50 \text{ L h}^{-1}$, respectivamente). Sin embargo estas diferencias entre las dos poblaciones no son significativas ($p > 0,05$) en ninguno de los dos periodos estudiados.

Choromytilus chorus Corral



Choromytilus chorus Melinka

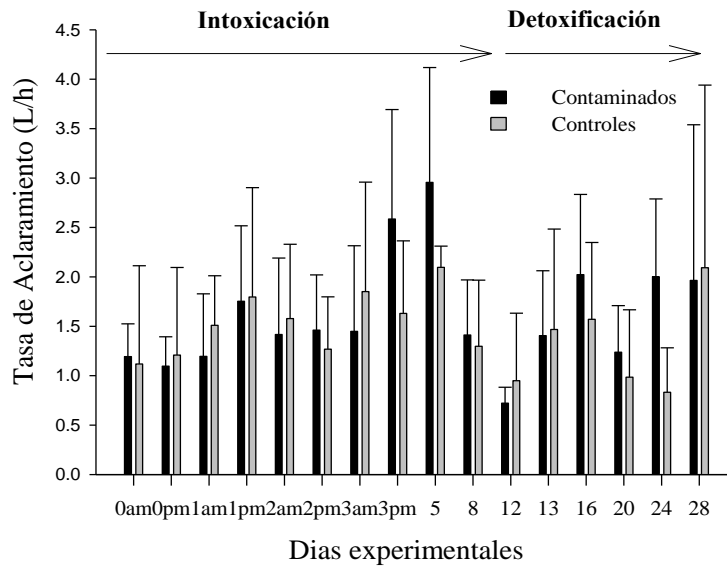


Figura 8: Tasa de aclaramiento de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka y expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

5.2.2.- Tasa de Ingestión Total (TIT)

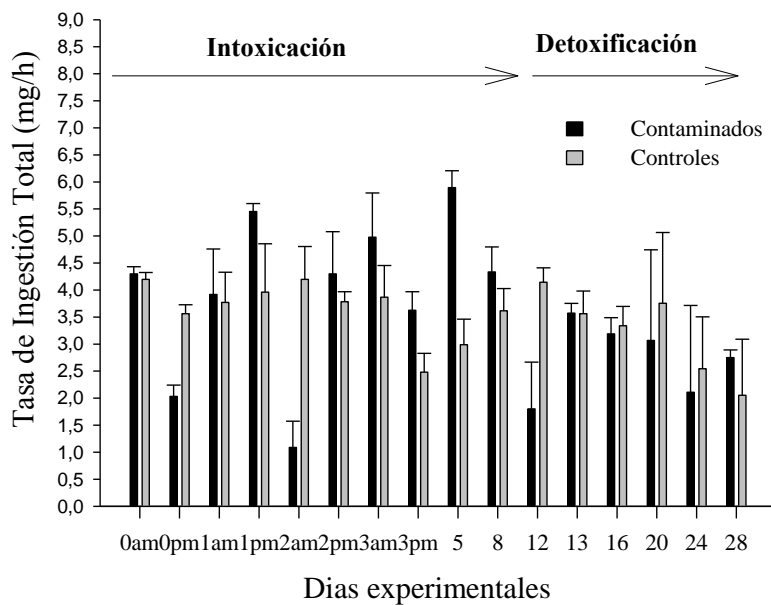
La tasa de ingestión total para los individuos contaminados de la población de Corral fluctuó entre 1,09 y 5,89 mg/h con un promedio de $3,79 \pm 1,54$ mg/h, para el período de intoxicación, valor levemente más alto que el presentado por los ejemplares de Melinka para el mismo período experimental ($3,12 \pm 1,30$ mg/h). En el período de detoxificación los ejemplares de la población de Corral presentaron un promedio de $2,94 \pm 0,62$ mg/h, inferior al obtenido por la población de Melinka, el cual fue de $3,43 \pm 0,75$ mg/h (**Fig. 9**). No existen diferencias significativas en la TIT durante todo el experimento.

La tasa de ingestión del grupo control de la población de Corral fue mayor respecto a la población de Melinka durante todo el experimento. Durante el período de intoxicación, los valores promedio fueron de $3,69 \pm 0,53$ mg/h para los ejemplares de Corral y de $2,79 \pm 0,81$ mg/h para los animales de Melinka. Para el período de detoxificación se obtuvo un patrón similar, $3,05 \pm 0,72$ mg/h para los ejemplares de Corral y $2,71 \pm 0,78$ mg/h para los de Melinka. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) al comparar las tasas de ingestión de los ejemplares contaminados de ambas poblaciones, como tampoco al comparar los individuos controles de estas dos localidades.

5.2.3.- Tasa de Ingestión Orgánica (TIO)

Durante la fase de intoxicación, la tasa de ingestión orgánica mostró una respuesta similar a la ingestión total, con un promedio ligeramente mayor en los ejemplares contaminados provenientes de la población de Corral. Sin embargo en el período de detoxificación, la ingestión orgánica fue mayor en Melinka ($2,09 \pm 0,45$ mg/h) que en Corral ($1,79 \pm 0,33$ mg/h), aunque sin ser significativamente diferentes ($p > 0,05$). Al comparar los animales controles de ambas poblaciones, tampoco se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) (**Fig. 10**).

Choromytilus chorus Corral



Choromytilus chorus Melinka

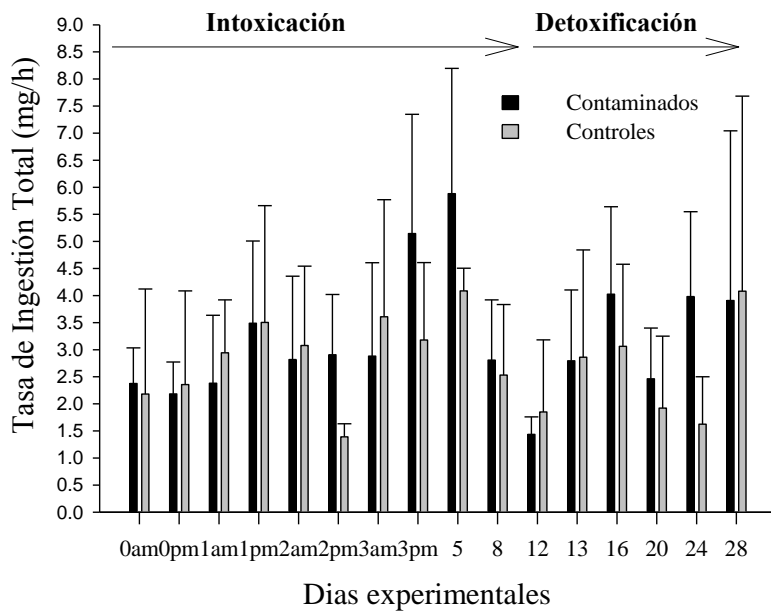
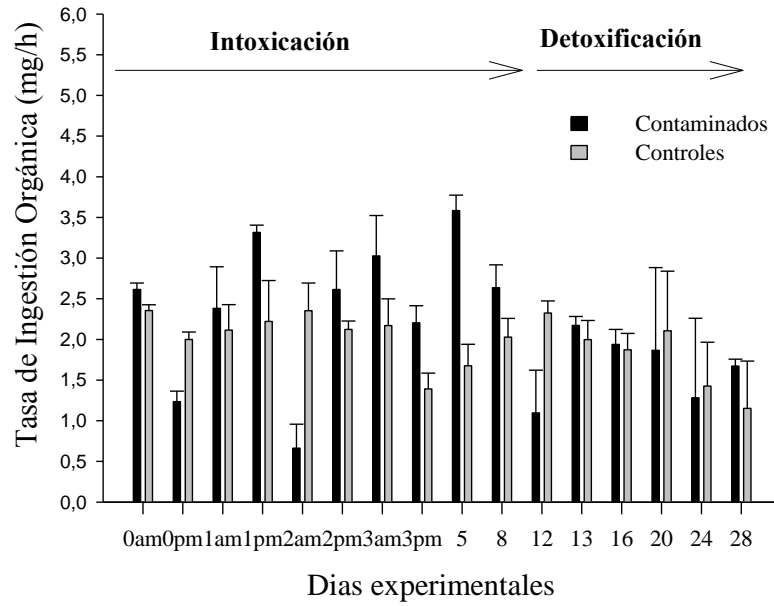


Figura 9: Tasa de Ingestión Total de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

Choromytilus chorus Corral



Choromytilus chorus Melinka

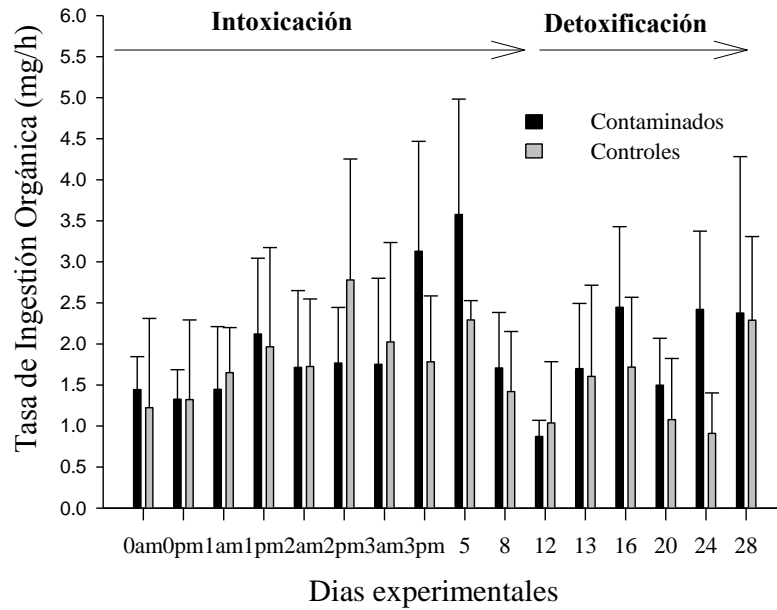


Figura 10: Tasa de Ingestión Orgánica de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

5.2.4.- Eficiencia y Tasa de Absorción

Tanto la eficiencia como la tasa de absorción de los ejemplares contaminados de *C. chorus* de la población de Corral son más altas que las medidas en los ejemplares contaminados provenientes de Melinka. En el período de intoxicación los ejemplares contaminados de Corral presentaron un promedio de eficiencia de absorción significativamente mayor ($77,10 \pm 6,94$ %) que el obtenido para los animales contaminados de Melinka ($63,05 \pm 7,65$ %). En la etapa de detoxificación se mantiene la misma conducta, donde los ejemplares de Corral presentan un promedio de $73,38 \pm 5,50$ %, que es significativamente mayor ($p < 0,05$) que el de los animales de Melinka ($60,80 \pm 3,04$ %).

La eficiencia de absorción en los animales sometidos a la dieta control no fue significativamente diferente entre ambas poblaciones en las dos fases de estudio. Los individuos de Corral presentaron un promedio de $64,92 \pm 4,70$ % en la fase de intoxicación y de $45,29 \pm 15,54$ % en la fase de detoxificación. Por su parte, el grupo control de la población de Melinka presentó un promedio de $64,81 \pm 11,65$ % en la fase de intoxicación y $56,57 \pm 11,22$ % en la detoxificación (**Fig. 11**).

La tasa de absorción (**Fig. 12**) de los ejemplares de Corral durante el periodo de intoxicación fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que la obtenida para los animales de Melinka. En el período de detoxificación se observa una nivelación de las tasas de ambas poblaciones, siendo levemente mayor la de los individuos de Melinka, aunque no significativamente diferente a la de Corral ($p > 0,05$).

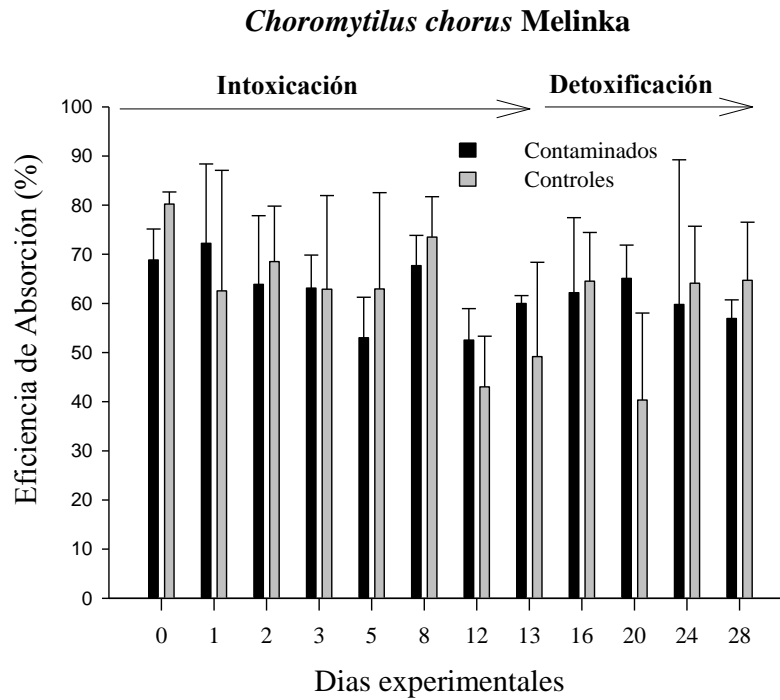
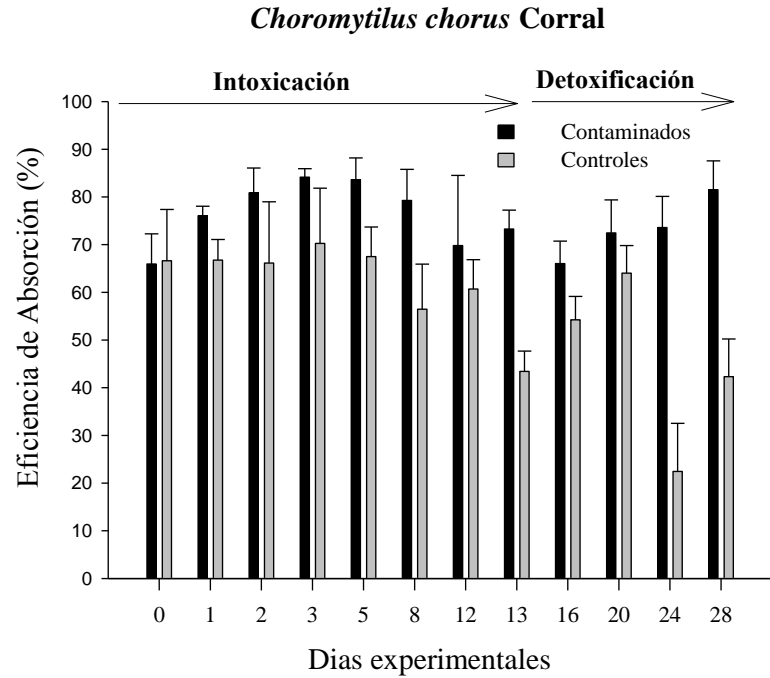
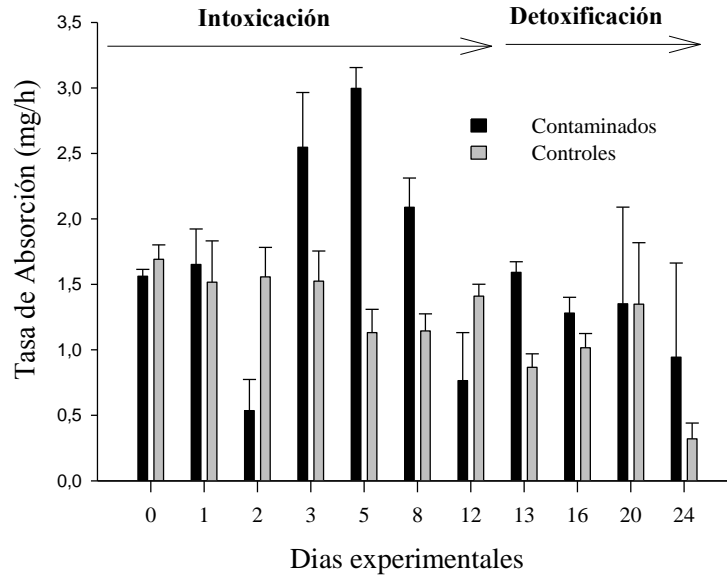


Figura 11: Eficiencia de Absorción de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

Choromytilus chorus Corral



Choromytilus chorus Melinka

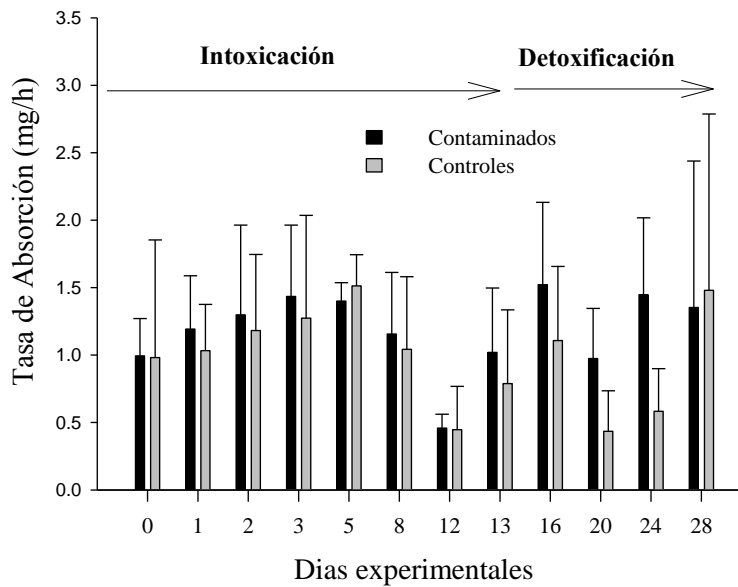
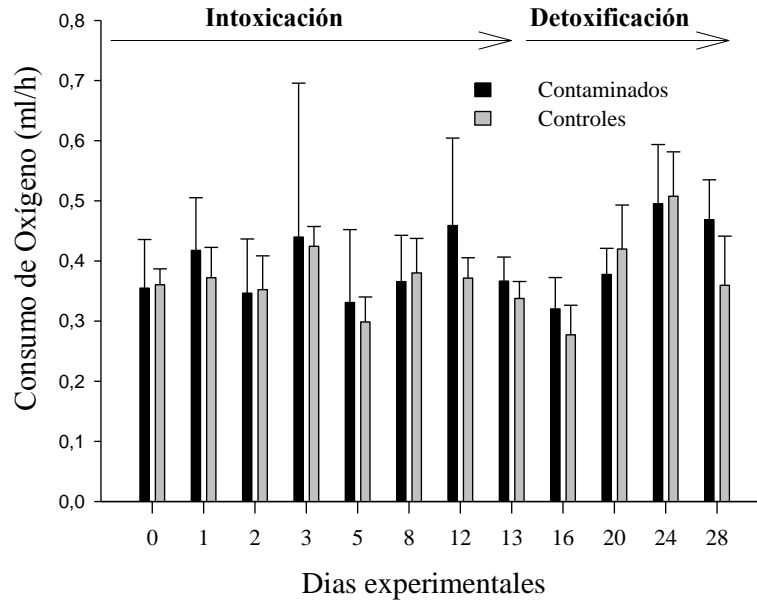


Figura 12: Tasa de Absorción de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

5.2.5.- Consumo de Oxígeno

El comportamiento de los animales contaminados de las dos poblaciones durante el proceso de intoxicación no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$), con un consumo de oxígeno promedio de $0,43 \pm 0,18$ ml de O_2 /h en los ejemplares de Melinka y ligeramente menor en los de Corral ($0,39 \pm 0,05$ ml de O_2 /h). Durante la fase de detoxificación tampoco se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el consumo de oxígeno de los animales contaminados de ambas poblaciones, donde resultaron valores de $0,41 \pm 0,07$ ml de O_2 /h y de $0,41 \pm 0,08$ ml de O_2 /h, para Corral y Melinka, respectivamente. En los animales controles el consumo de oxígeno fue levemente mayor en la población de Melinka ($0,40 \pm 0,15$ ml de O_2 /h) comparado al de Corral ($0,37 \pm 0,04$ ml de O_2 /h) en el período de intoxicación, conducta que se mantiene durante el período de detoxificación ($0,38 \pm 0,09$ ml de O_2 /h Corral frente a $0,41 \pm 0,06$ ml de O_2 /h Melinka). Las diferencias observadas no son significativas ($p > 0,05$) al comparar los animales del grupo control de ambas poblaciones, tanto para el período de intoxicación como de detoxificación (**Fig. 13**).

Choromytilus chorus Corral



Choromytilus chorus Melinka

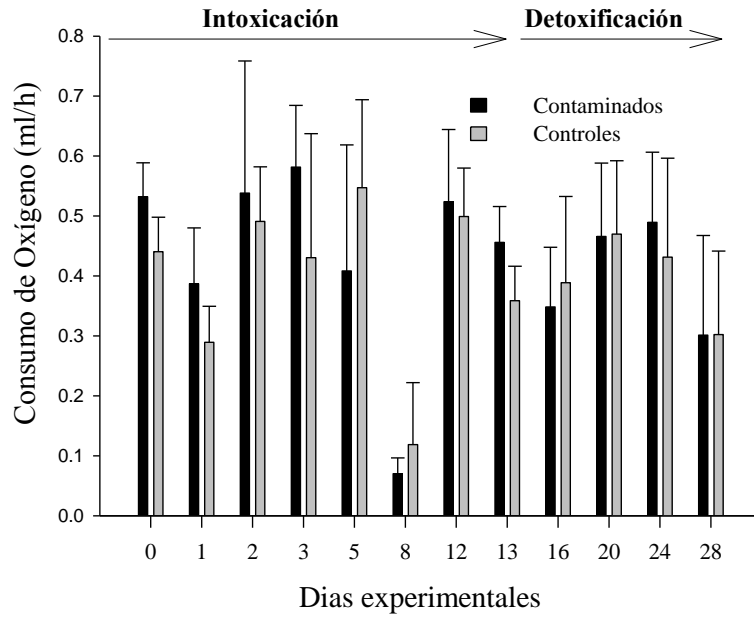
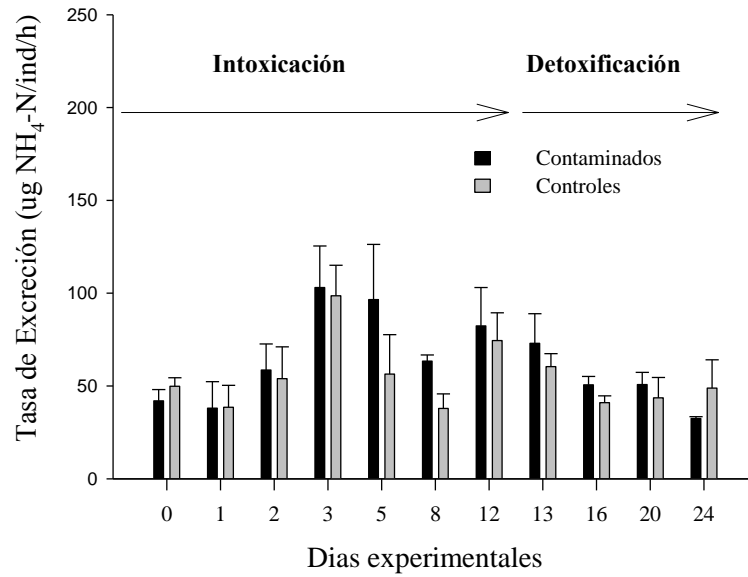


Figura 13: Consumo de oxígeno de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

5.2.6.- Tasa de Excreción

Los ejemplares contaminados de *C. chorus* provenientes de Melinka presentaron una tasa de excreción promedio de $84,44 \pm 23,38 \mu\text{g NH}_4\text{-N ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en el período de intoxicación, en comparación a un valor levemente menor para la población de Corral para el mismo periodo ($69,17 \pm 25,58 \mu\text{g NH}_4\text{-N ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$), diferencias que no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Durante el período de detoxificación, la tasa de excreción fue significativamente diferente ($p < 0,05$) entre las dos poblaciones, alcanzando un promedio de $113,56 \pm 39,50 \mu\text{g NH}_4\text{-N ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en los ejemplares contaminados de Melinka, frente a un promedio de $51,72 \pm 16,58 \mu\text{g NH}_4\text{-N ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en los animales de Corral. En los ejemplares del grupo control también se observó una tasa de excreción significativamente mayor ($p < 0,05$) en los animales de Melinka, con un promedio de $81,06 \pm 14,60 \mu\text{g NH}_4\text{-N ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ frente a un promedio de $58,53 \pm 41,56 \mu\text{g NH}_4\text{-N ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$, obtenido en los animales de Corral durante todo el experimento (**Fig. 14**).

Choromytilus chorus Corral



Choromytilus chorus Melinka

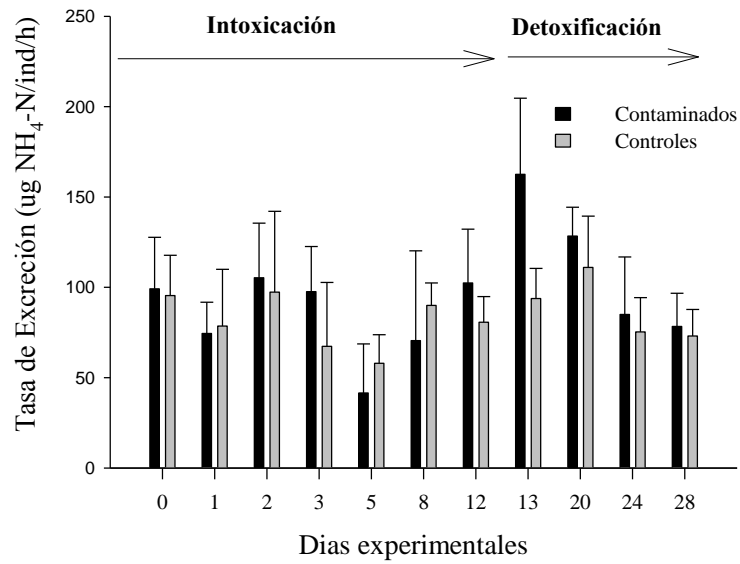


Figura 14: Tasa de Excreción de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

5.2.7.- Crecimiento Potencial

Los ejemplares contaminados de Corral presentaron valores más altos durante todo el experimento, alcanzando los $27,36 \pm 18,71$ J/h en el período de intoxicación, que fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que el obtenido para los animales de Melinka ($12,55 \pm 9,63$ J/h). Una situación similar ocurrió en el período de detoxificación, donde los animales contaminados de Corral obtuvieron un crecimiento potencial de $18,09 \pm 6,38$ J/h, frente a $13,83 \pm 6,61$ J/h obtenido para la población de Melinka, aunque en este caso sin diferencias significativas.

Los ejemplares controles de la población de Corral también mostraron valores de crecimiento potencial significativamente ($P < 0.05$) más altos que los animales controles de Melinka durante la fase de intoxicación, presentando valores promedio de $21,14 \pm 4,03$ J/h, en comparación a los de Melinka, que alcanzaron valores de $12,22 \pm 7,15$ (J/h). En la fase de detoxificación, la diferencia entre las dos poblaciones disminuye, sin embargo, los animales de Corral siguen superando a los controles de Melinka, con valores de $9,77 \pm 10,24$ (J/h) contra un promedio de $6,71 \pm 11,83$ (J/h) para los de Melinka (**Fig. 15**).

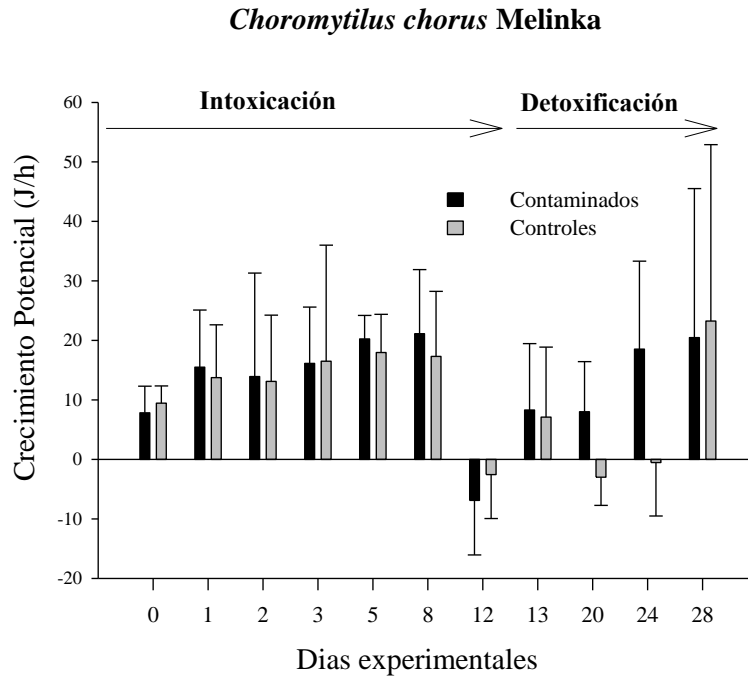
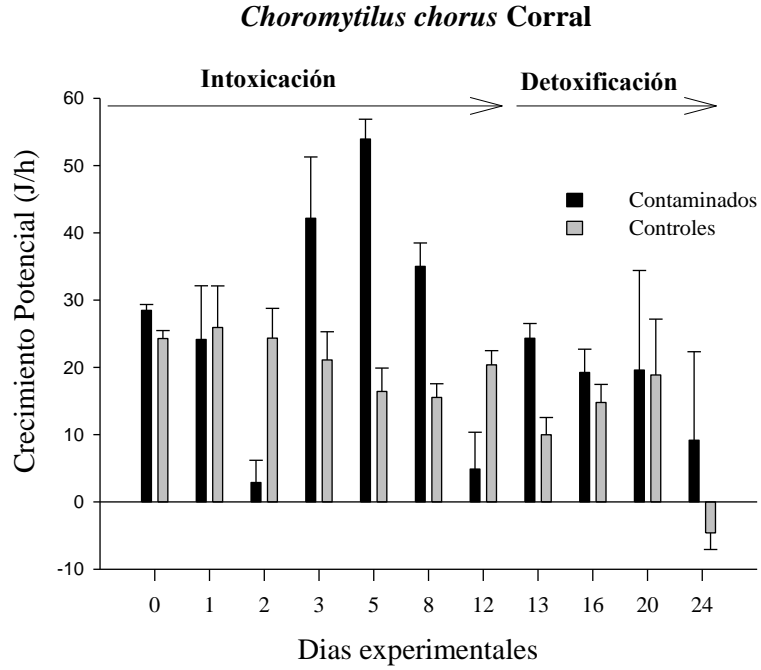


Figura 15: Crecimiento Potencial de *Choromytilus chorus* proveniente de Corral y Melinka expuestos a dieta contaminada y control durante periodos de intoxicación y de detoxificación. Valores representan promedios \pm error standard.

Tabla 1: Resumen resultados obtenidos para ejemplares de *Choromytilus chorus* provenientes de dos poblaciones separadas geográficamente. Se indica con **C** los animales de Corral, con **M** los de Melinka. Si existen diferencias significativas en las tasas fisiológicas se indica con *.

| Tasa Fisiológica | Período Experimental | |
|-----------------------------|----------------------|----------------|
| | Intoxicación | Detoxificación |
| Tasa Aclaramiento | C > M | C > M |
| Tasa Ingestión Total | C > M | C < M |
| Tasa Ing. Orgánica | C > M | C < M |
| Eficiencia Absorción | C* > M | C* > M |
| Tasa Absorción | C* > M | C > M |
| Consumo Oxígeno | C < M | C = M |
| Tasa Excreción | C < M | C < M* |
| CrecimientoPotencial | C* > M | C > M |

6.- Discusión

La exposición de individuos de *Choromytilus chorus* provenientes de las poblaciones de Corral y Melinka a un período de 12 días de intoxicación con *Alexandrium catenella*, resultó en la acumulación de saxitoxina a niveles superiores del límite regulatorio establecido para el consumo humano (80 µg de STXeq/100 g). Según Twarog (1972), las poblaciones de bivalvos que han estado expuestas permanentemente a los blooms fitoplanctónicos tóxicos son más resistentes y capaces de acumular elevados niveles de saxitoxina en sus tejidos, que poblaciones sin historial de exposición a VPM. Contrario a lo observado por Twarog (1972), *Choromytilus chorus* proveniente de Melinka, a pesar de tener un historial de exposición frecuente al dinoflagelado tóxico *A. catenella*, muestra menores valores de acumulación de toxina paralizante, respecto a los ejemplares provenientes de Corral. Otros trabajos realizados con bivalvos (Macquarrie and Bricelj, 2008 y Bricelj et al., 2005; Chebib et al., 1993), siguen la tendencia descrita por Twarog (1974). A su vez, otras especies alcanzan concentraciones de toxina muy altas con respecto a lo obtenido para *Choromytilus chorus*. Tal es el caso de *Mytilus edulis* que al ser intoxicado con *Alexandrium fundyense* alcanza una concentración de 45000 µg de STXeq/100 g (Bricelj et al., 1990). *Perna canaliculus*, bivalvo endémico de Nueva Zelanda, que al ser intoxicado con *Alexandrium tamarense*, alcanza concentraciones de 1295 µg de STXeq/100 g en sus tejidos (Marsden and Shumway, 1992). En general, los mitílidos se describen como organismos centinelas en la detección de floraciones algales nocivas (VPM), debido a la capacidad que tienen para acumular elevadas concentraciones de saxitoxina en períodos cortos de tiempo (Shumway, 1990; Navarro et al., 2011). Las concentraciones de saxitoxina presente en los ejemplares de *Choromytilus chorus* de ambas localidades (Corral-Melinka), concuerdan con lo descrito anteriormente, ya que en los primeros 5 días de exposición a la dieta toxica logran acumular concentraciones sobre el límite regulatorio para el consumo humano. Navarro and Contreras (2010), describen un comportamiento similar en ejemplares adultos de *Mytilus chilensis*, ya que al ser sometidos a una dieta conteniendo el dinoflagelados *A. catenella*, alcanzan altas concentraciones de saxitoxina en sus tejidos en periodos cortos de exposición. En general se ha descrito por

varios autores que el grupo de bivalvos mitílidos, tiene la capacidad de aclimatarse rápidamente a una dieta toxica, lo cual se debería a que este género se caracteriza por presentar una alta insensibilidad a la toxina paralizante (Bricelj and Shumway, 1998; Navarro et al., 2011).

La acumulación de toxina en los tejidos de *Ch. chorus* está muy relacionada con la actividad de alimentación que presentan los animales de ambas poblaciones. Los bivalvos provenientes de Corral presentaron una mayor tasa de aclaramiento en la fase de intoxicación, lo que explicaría la mayor acumulación de toxina en sus tejidos. A pesar de observarse un leve efecto de la dieta toxica sobre la actividad de alimentación de los ejemplares de ambas poblaciones, no se observan diferencias significativas entre ellas, que permitan establecer que ejemplares de *Choromytilus chorus* sin historial de exposición se vean afectados por la presencia de *A. catenella*, como se describe en estudios realizados sobre otras especies de bivalvos. Es el caso de *Mytilus chilensis*, donde Navarro et al, (2008) describen un claro efecto inicial de la toxina sobre actividad de filtración. Efectos mas drásticos se describen para la ostra *Crassostrea gigas* (Gainey and Shumway, 1988) y la almeja *Ruditapes philippinarum* (Li et al., 2001), que reducen su actividad de filtración en forma significativa al ser expuestos a *Alexandrium tamarense*. Wildish et al, (1998), describen una conducta de “stop/start” en la ostra *Crassostrea gigas*, al ser expuesta al dinoflagelados tóxico *Alexandrium tamarense* en los primeros días de intoxicación, en donde se observa una disminución en su actividad de filtración, recuperándose en el transcurso de 48 horas de exposición a la dieta contaminada.

Las diferencias en la eficiencia de absorción entre las dos poblaciones estudiadas podrían deberse a las condiciones naturales de los ambientes de donde provienen estos organismos. Así, al presentar Corral valores más altos de eficiencia de absorción, podría indicar que es una población más activa, que está expuesta a condiciones ambientales diferentes por el impacto del Río Valdivia, que entrega un gran aporte de material particulado suspendido a la columna de agua. Fernandez-Reiriz et al, (2013), trabajando con el bivalvo *Tagelus dombeii* del mismo lugar, hicieron esta misma relación y postulan que los animales de Corral tienen una actividad enzimática más alta que los de Melinka debido a las condiciones ambientales diferentes que experimenta cada población. Esto explicaría lo que ocurre con *Choromytilus chorus* de Corral, que de acuerdo a los resultados, se observa

que es una población más activa en procesos de alimentación que los animales de Melinka y que al no verse afectado por la dieta contaminada es capaz tener una alta eficiencia de absorción que favorece la obtención de energía desde el medio, reflejada en una mayor cantidad de energía canalizada a crecimiento.

Navarro and Contreras, (2010) demostraron que el bivalvo *Mytilus chilensis*, que vive en simpatria con *C. chorus*, no presentó diferencias significativas en el consumo de oxígeno al ser expuesto al dinoflagelado *A. catenella*, lo que coincide con la respuesta de *C. Chorus*. De acuerdo a estos resultados y a la literatura existente sobre el tema, se pueden observar diversas respuestas dependiendo de las especies. Así, el ostión *Placopecten magellanicus*, al ser expuesto a una dieta tóxica, disminuye su consumo de oxígeno (Shumway et al., 1985). *Perna canaliculus* aumenta significativamente el consumo de oxígeno al ser expuesto a cepas tóxicas de *A. tamarense* (Marsden and Shumway, 1992). Estas diversas respuestas indican que las respuestas de consumo de oxígeno frente a dietas tóxicas son especie-específicas.

El dinoflagelado tóxico *A. catenella* mostró un efecto sobre la tasa de excreción de los ejemplares de Melinka, lo que podría deberse a la mayor capacidad de degradación de la toxina por la experiencia previa al estar expuestos a frecuentes evento de marea roja. Esta afirmación puede ser respaldada por el hecho que los ejemplares de Melinka logran reducir a cero la concentración de toxina al final del periodo de detoxificación. Navarro and Contreras (2010) describieron una respuesta similar al trabajar con ejemplares de *Mytilus chilensis* provenientes de la bahía de Yaldad, Chiloé, lugar expuesto ocasionalmente a VPM.

Bricelj et al., (2005) describen una mayor tolerancia a la toxina en ejemplares de la almeja *Mya arenaria* que estuvieron expuestos previamente a blooms de dinoflagelados tóxicos. Según estos autores, esta respuesta se explica por un bloqueo en los canales de sodio de la membrana celular que evita la absorción de la saxitoxina a través de estas membranas, evitando que la toxina altere la función nerviosa normal. El presente estudio difiere a estos autores, ya que los ejemplares contaminados provenientes de Corral presentaron un crecimiento potencial significativamente mayor ($p < 0,05$) que los de Melinka, que están expuestos en forma frecuente a eventos de mareas rojas tóxicas del tipo paralizante. Sin embargo, a pesar que *Choromytilus chorus* proveniente de Melinka

presenta valores significativamente más bajos que los ejemplares de Corral, no se observan valores negativos de crecimiento potencial.

De acuerdo a lo anterior, se puede concluir que ejemplares de *C. chorus* con diferente historial de exposición a blooms de mareas rojas productoras de veneno paralizante de moluscos, son capaces de tolerar una dieta tóxica conteniendo el dinoflagelado *A. catenella*. Sólo se observó un leve impacto en su conducta alimentaria durante las primeras horas de intoxicación, seguido de una rápida recuperación, lo que muestra la capacidad de *C. chorus* para aclimatarse a una dieta con estas características y utilizar al dinoflagelado como un recurso alimenticio, que le permite obtener una alta tasa de absorción y que al relacionarla con el gasto metabólico (consumo de oxígeno y tasa de excreción), da como resultado un índice de crecimiento potencial positivo a lo largo de todo el experimento, pese al historial sin la presencia de mareas rojas tóxicas que presenta Corral (Molinet et al., 2003). A su vez, los animales de Melinka, con una exposición previa a una dieta tóxica en condiciones naturales, tuvieron un comportamiento fisiológico similar a la población de Corral, a pesar de que los valores obtenidos en las tasas fisiológicas en general son más bajos que los alcanzados por los animales de Corral. Al comparar los resultados obtenidos en este trabajo con la literatura existente, se puede concluir que la variabilidad en las respuestas fisiológicas observadas en especies de bivalvos sometidos a dietas tóxicas, se debe a una respuesta especie-específica, pudiendo ser tan sensibles como la ostra *Crassostrea gigas* (Bardouil et al., 1993) y la almeja *Mya arenaria* (Bricelj et al., 2005), o presentar una insensibilidad tan alta como es el caso de *Spisula solidissima* y *Modiolus modiolus*, al ser alimentadas con *Protogonyaulax tamarensis* (Shumway and Cucci, 1987), respuesta que es muy similar a lo observado en *C. chorus* alimentado con *A. catenella*.

Según los resultados obtenidos, se puede afirmar que la capacidad de aclimatación de *C. chorus* a la dieta tóxica permite a los individuos con diferente historial de exposición, acumular toxina sobre el límite regulatorio (80 µg de SXT/equiv 100 g) y a su vez disminuir la concentración de saxitoxina en sus tejidos en un período corto de tiempo. Estas características le permitiría a *C. chorus* tener la cualidad de ser una especie centinela a la hora de detectar blooms del dinoflagelado *A. catenella* en el ambiente natural. También permitiría que bancos naturales de *C. chorus* expuestos a marea roja (VPM), puedan recuperarse después de un corto periodo de tiempo de haber finalizado el evento tóxico, lo

cual representa un gran beneficio para la especie y para el hombre, debido a que *Choromytilus chorus* es un recurso de importancia comercial en la zona sur-austral de nuestro país.

7.- Referencias

Alamo, V. and V. Valdivieso. (1987) Lista sistemática de moluscos marinos del Perú. Bol. Inst. Mar. Perú- Callao. Volumen Extraordinario: 205 pp

Amorin A, B Dale, R Godinho and V Brotas (2002) *Gymnodinium catenatum*-like cyst (Dinophyceae) in recent sediments from coast of Portugal. Phycologia 40: 572-582.

Bardouil, M., Bohec, M., Cormerais, M., Bougrier, S. and Lassus, P. (1993) Experimental study of the effects of a toxic microalgae diet on feeding of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). J. Shellfish Res. 12: 417–422.

Bayne, B.L., Brown, D.A., Burns, K., Dixon, D.R., Ivanovici, A., Livingstone, D.R., Lowe, D.M., Moore, M.N., Stebbing, A. and J. Widdows. (1985) The effects of stress and Pollution on Marine Animals. Praeger, Greenwood Press, 384 pp.

Bayne, B.L., Hawkins, A.J.S. and Navarro, E. (1987) Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis* L. (Bivalves: Mollusca) in mixtures of silt and algal cells at low concentrations. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 111: 1-22.

Bricelj V.M., Connell L., Konoki K., MacQuarrie S.P., Scheuer T., Catterall W.A. and Trainer V.L., (2005) Sodium channel mutation leading to saxitoxin resistance in clams increases risk of PSP. Nature 434, 763–767. **Bricelj V.M., Lee J.H., Cembella A.D.**

Anderson D.M., (1990) Uptake kinetics of paralytic shellfish toxins from the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* in the mussel *Mytilus edulis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 63, 117–188.

Bricelj V.M., Shumway S.E., (1998) Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. Rev. Fish. Sci. 6, 315–383.

Carcelles, A.R. and S. Williamson (1951). Catálogo de los moluscos marinos de la Provincia Magallánica. museo argentino de Ciencias naturales bernardino rivadavia, Ciencias Zoológicas 2:225-383

Cassis, D., P. Muñoz y S. Avaria. (1999). Relación entre temperatura del agua y algas nocivas del fitoplancton en la cabeza del seno Aysén, XI Región, Chile. Resúmenes XXI Congreso de Ciencias del Mar, Antofagasta, Chile, p.85.

Chebib, H. A., Cembella, A.D. and Anderson, P. (1993) Differential paralytic shellfish toxin accumulation and detoxification kinetics in transplanted populations of *Mytilus edulis* exposed to natural blooms of *Alexandrium excavatum*. In: toxic Phytoplankton Blooms in the sea, pp. 383-388. Dev. in Marine Biology.

Conover, R.J. (1966) Assimilation of organic matter by zooplankton. Limnol.Oceanogr., 11: 338- 345.

Coughlan J., (1969) The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. Mar. Biol. 2, 356–358.

Fernández-Reiritz M. J., Navarro, J.M., Cisternas, B.A., Labarta, U. and Babarro, J.M.F (2013) Enzymatic digestive activity and absorption efficiency in *Tagelus dombeii* upon *Alexandrium catenella* exposure. Helgol Mar Res DOI 10.1007/s10152-013-0351-6

Gainey, L.F. and Shumway, S.E. (1988) A compendium of the responses of bivalve mollusc to toxic dinoflagellates. J. Shellfish Res. 7(4): 623-628.

Guillard R.R.L., (1975) Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith W.L., Chanley, M.H. (Eds.), Culture of marine invertebrate animals, Plenum Press, NY, pp. 29–60.

Guillard R.R.L., (1995) Culture methods. In: Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D., (Eds.), Manual on Harmful Marine Microalgae, IOC manuals and guides No. 33 UNESCO, Paris, pp. 45–62.

Guzmán, L., Campodonico, G. (1975) Marea roja en la región de Magallanes. Instituto de la Patagonia, Punta Arenas.

Guzmán, L. and Campodónico, I. (1978) Mareas rojas en Chile. Interciencia. 3: 144- 151.

Guzmán, L., Uribe, J., Pizarro, G., Suárez, B., López, A., Alarcón, C. and Igor, R. (2000) Seguimiento de la Toxicidad en Recursos Pesqueros de Importancia Comercial en la XII Región. Proyecto FIP 97/48, Informe Final, 133 pp.

Guzmán, L., Pacheco, H., Pizarro, G. and Alarcón, C. (2002) *Alexandrium catenella* y Veneno Paralizante de los Mariscos en Chile. En: Sar, E., Ferrario, M. and Reguera, B. (Eds.). Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano, 235-255.

Hernández-Orozco, M.L. and Garate Lizarraga, I. (2006) síndrome de envenenamiento paralizante por consumo de moluscos. Rev. Biomed. 17(1): 45-60.

Lehanne, L. (2000) Paralytic Shellfish Poisoning a Review. National Office of Animal and Plant Health Agriculture, Fisheries and Forestry. 60 pp.

Lembeye G, L Guzmán and I Campodónico (1975) Estudios sobre un florecimiento tóxico causado por *Gonyaulax catenella* en Magallanes. III Fitoplancton asociado. Anales del Instituto de la Patagonia (Chile) 6: 197-208.

Li, S.C., Wang, W.X. and Hsieh, D.P.F. (2001) Feeding and absorption of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* by two marine bivalves from the South China Sea. *Marine Biology*. 139: 617-624.

Li, S.C., Wang, W.X. and Hsieh, D.P.F. (2002) Effects of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on the energy budgets and growth of two marine bivalves. *Mar. Environ. Res.* 53: 145-160.

Marsden, I.D. and Shumway, S.E. (1992) Effects of dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on the greenshell mussel *Perna canaliculus*. *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.* 26:371–378.

MacQuarrie, S.P. and Bricelj, V.M. (2008) Behavioral and physiological responses to PSP toxins in *Mya arenaria* populations in relation to previous exposure to red tides. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 366: 59-74.

Molinet, C., Lafon, A., Lembeye, G. and Moreno, C. (2003) Patrones de distribución espacial y temporal de floraciones de *Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech 1985, en aguas interiores de la Patagonia noroccidental de Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 76 (4): 681 – 698.

Navarro, J.M. and Winter, J.E. (1982) Ingestion rate, assimilation efficiency and energy balance in *Mytilus chilensis* in relation to body size and different algal concentration. *Marine Biology*, 67: 255-266.

Navarro, J.M., Contreras, A.M., y Chaparro, O.R. (2008) Respuesta alimentaria inicial del bivalvo *Mytilus chilensis* expuesto a dietas conteniendo el dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella*

Navarro J.M., Contreras A.M., (2010) An integrative response by *Mytilus chilensis* to the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Mar. Biol.* 157, 1967–1974.

Navarro, JM., Aguila, BL., Machmar, F., Chaparro, OR., and Contreras, AM. (2011) Dynamic of intoxication and detoxification in juveniles of *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) exposed to paralytic shellfish toxins

Olsson, Axel A. (1961). Mollusks of the tropical eastern Pacific particularly from the southern half of the Panamic-Pacific faunal province (Panama to Peru). Panamic-Pacific Pelecypoda. Paleontological Research Institution, Ithaca, New York. 574 pp, 86 pls.

Orlova, T.Y., Konovalova, G.V., Stonik, I.K., Selina, M.S., Morozova, T.V. and Shevshenko, O. (2002) Harmful algal blooms on the eastern coast of Russia. En: Max FJ, R Taylor and L Vera (Eds) Harmful algal blooms in the Pices region of the North Pacific 23: 47-58. Pices Scientific Report, Sidney, Australia.

Shumway S.E., Cucci T.L., Gainey L., Yentsch C.M., (1985) A preliminary study of the behavioral and physiological effects of *Gonyaulax tamarensis* on bivalve molluscs. In: Anderson D.M., White A.W., Bader D.G. (Eds.), Toxic Dinoflagellates, Elsevier, pp. 389–394.

Shumway, S.E. and Cucci, T.L. (1987) The effects of dinoflagellate *Protogonaulax tamarensis* on the feeding and behavior of bivalve mollusc. *Aquat Toxicol.* 10: 9-27.

Shumway, S.E. (1990) A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. *J. World Aquaculture Soc.* 21 (2): 65-104.

Shumway, S.E. (1995) Phycotoxin-related shellfish poisoning: bivalve molluscs are not the only vectors. *Rev. Fish. Sci.* 3: 1-31.

Solórzano, L. (1969) Determination ammonia in natural water by the Hypochlorite method. *Limnol.Oceanogr.*, 14: 799- 801.

Twarog, B.M., Hidaka, T. and Yamaguchi, H. (1972) Resistance to tetrodotoxin and saxitoxin in nerves of bivalve mollusk. *Toxicon*. 10: 273-278.

Twarog, B.M. and Yamaguchi, H. (1974) Resistance to paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs, in: Proceedings of the First International Conference on toxic Dinoflagellate Blooms, Boston-Massachusetts Science and Technology Foundation, Wakefield, M A, pp. 382-393.

Utermohl H., (1958) Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* 9, 1–38.

Vélez P., Sierralta J., Alcayaga C., Fonseca M., Loyola H., Johns D.C., Tomaselli G.F., Suárez-Isla B.A., (2001) A functional assay for paralytic shellfish toxins that uses recombinant sodium channels. *Toxicon* 39, 929–935.

Widdows, J. (1985) Physiological Responses to Pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 16 (4): 129-134.

Wildish D., Lassus P., Martin J., Saulnier A., Bardouil M., (1998) Effect of the PSP-causing dinoflagellate, *Alexandrium* sp. On the initial feeding response of *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 11, 35–43.