PODER LEGISLATIVO

PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO,
ANTÁRTIDA E ISLAS DEL ATLÁNTICO SUR
REPÚBLICA ARGENTINA

COMUNICACIONES OFICIALES

Nº: 047 PERIODO LEGISLATIVO: 2020

Extracto:

MINISTERIO JEFATURA DE GABINETE NOTA Nº 23/20 ADJUNTANDO CONTESTACIÓN A LO REQUERIDO MEDIANTE RESOLUCIÓN DE CÁMARA Nº 53/20

Entró en la Sesión de: _____

Girado a la Comisión Nº: _____

Orden del día Nº: _____

"2020- AÑO DEL GENERAL MANUEL BELGRANO"

Poder Legislativo FOLIO Nº 1171 Secretaría Legislativa

Provincia de Tierra del Fuego, Antártida
e Islas del Atlántico Sur
República Argentina

MINISTERIO JEFATURA DE GABINETE.

PODER LEGISLATIVO
SECRETARÍA LEGISLATIVA
31 JUL 2020
MESA DE ENTRADA
Nº 047 .. HS. 19.40 FIRMA.....

NOTA N° 23/2020
LETRA: M.J.G.

USHUAIA, 30 de julio de 2020.

SEÑORA PRESIDENTA DE LA LEGISLATURA PROVINCIAL
MONICA URQUIZA:

Tengo el agrado de dirigirme a Usted en mi carácter de Jefe de Gabinete, y conforme lo establecido en el artículo 12 inciso 4 Ley Provincial N° 1301, con el objeto de remitirle en contestación lo solicitado mediante la Resolución de la Cámara Legislativa de la Provincia N° 53/20, dada en la Sesión Ordinaria del 28 de Mayo de 2020, la Nota N°274/20 M.P.A, con la documentación allí anexada (Nota N° 060/20 Letra: D.G.L.T. y M. suscripta por el director General de Laboratorio de Toxica y Microbiología de la Secretaria de Pesca y Acuicultura del Ministerio de Producción y Ambiente, copia del informe preliminar titulado "Características ambientales y algas nocivas en un área de producción de moluscos bivalvos del Canal Beagle, Argentina informe de investigación titulado "Microalgas nocivas y eventos de toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal Beagle argentina" detalle del trabajo científico titulado "fitoplancton y toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal Beagle. Observaciones realizas en el mes de diciembre de 2013.

Sin otro particular, saludo a la Señora Presidenta de la Legislatura Provincial, con atenta y distinguida consideración.

COPIA FIEL
DEL ORIGINAL
María Valeria GONZALEZ
Jefe de Dpto. Despacho y Registro
D.A. - D.G.A. y D.
Mº Jefatura de Gabinete

TITA Paulo Agustin
Firmado digitalmente por TITA Paulo Agustin
Fecha: 2020.07.30 15:57:14 -03'00'

"Las Islas Malvinas, Georgias y Sándwich del Sur son y serán Argentinas"

Secretaría Legislativa

Mónica Susana URQUIZA
Vicegobernadora
Presidenta del Poder Legislativo

03/08/2020

Provincia de Tierra del Fuego,
Antártida e Islas del Atlántico Sur
REPÚBLICA ARGENTINA
MINISTERIO DE PRODUCCIÓN Y AMBIENTE

Poder Legislativo FOLIO Nº 2 Secretaría Legislativa

PODER LEGISLATIVO
SECRETARÍA LEGISLATIVA
30 JUL 2020
MESA DE ENTRADA
N°.... ..... Hs. .....FIRMA... .. ...

Nota Nº 274 /20
Letra: M.P. y A.

Ushuaia, 27 julio de 2020

Secretaría de Coordinación Legal
SECRETARÍA GENERAL, LEGAL Y TÉCNICA.

Me dirijo a Ud. en el marco de la Nota Nº 141/2020 Letra: S.C.L. (S.G.L.yT.) de fecha 16 de junio de 2020, a través de la cual se adjunta copia de la Resolución Nº 053/2020 de la Legislatura Provincial, a efectos de dar respuesta a los requerimientos efectuados por la Cámara Legislativa.

En tal sentido, se acompaña a la presente:

a) Nota N° 060/2020 Letra: D.G.L.T. y M. de fecha 21 de julio de 2020, suscripta por el Director General de Laboratorio de Toxina y Mircobiología de la Secretaría de Pesca y Acuicultura del Ministerio de Producción y Ambiente.

b) Copia del informe preliminar titulado "Características ambientales y algas nocivas en un área de producción de moluscos bivalvos del Canal Beagle, Argentina".

c) Informe de Investigación titulado "Microalgas nocivas y eventos de toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal Beagle, Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur".

d) Detalle del trabajo científico titulado "Fitoplancton y toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal Beagle. Observaciones realizadas en el mes de diciembre de 2013", el cual fuera presentado en las "IX Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar", realizadas en la ciudad de Ushuaia entre los días 20 al 25 de septiembre de 2015.

Por lo expuesto se remite la presente, en tiempo y forma, a sus efectos.

Sin otro particular, saludo atentamente.

CASTIGLIONE Sonia Elizabeth 2020.07.27 18:16:34 -03'00'

SECRETARÍA LEGAL Y TÉCNICA
30 JUL. 2020
HORA: 13 10

Poder Legislativo FOLIO Nº 3 Secretaría Legislativa

Provincia de Tierra del Fuego, Antártida
e Islas del Atlántico Sur
República Argentina
SECRETARÍA GENERAL, LEGAL Y TÉCNICA

NOTA Nº 141 /2020
LETRA: S.C.L (S.G.L.y.T.)

USHUAIA, 16 JUN 2020

SRA. MINISTRO DE PRODUCCIÓN Y AMBIENTE:

Por medio de la presente me dirijo a Ud., adjuntando copia de la Resolución Nº 053/2020 de la Legislatura Provincial dada en sesión Ordinaria del día 28 de mayo del corriente e ingresadas al Poder Ejecutivo en fecha 5/06/2020, a efectos de solicitarle tenga a bien dar respuesta a los requerimientos formulados por la Cámara Legislativa en la mencionada resolución.

En función de ello, solicito arbitre los medios necesarios para que, por su intermedio y de las áreas que estime corresponder, se remita la información solicitada, en forma precisa y completa, la cual deberá ser dirigida **directamente a esta Secretaría de Coordinación Legal (S.G.L. y T), hasta el día 3 de agosto del año en curso** debiéndose tener presente para ello lo dispuesto en la Circular S.L. y T Nº04/10.

Sin más, saludo atentamente.

Dra. Zarina Eladia ROSS
SUBSECRETARIA LEGAL
Secretaría Gral., Legal y Técnica

24/06/20
Recibido

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 4
Secretaría Legislativa

Provincia de Tierra del Fuego, Antártida
e Islas del Atlántico Sur
República Argentina
MINISTERIO DE PRODUCCION Y AMBIENTE
Secretaría de Pesca y Acuicultura
DIRECCIÓN GENERAL DE LABORATORIO
DE TOXINA Y MICROBIOLOGIA

NOTA Nº 060/2020
LETRA: D. G. L. T. y M.

USHUAIA, 21 JUL 2020

SR. SUBSECRETARIO DE PESCA (M. P. y A.).
MARZIONI, Diego.

Por medio de la presente, me dirijo a Ud. en respuesta al pedido de la Legislatura Provincial, en la sesión del día 28 de Mayo del corriente año, cuyo número de Resolución es 053/2020.

Con relación al Artículo 1, punto a, en Noviembre del 2013 fue suscripta el Acta Acuerdo Nº 14, entre el Gobierno de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur y el INIDEP, en el marco del Convenio de Colaboración Reciproca firmado entre ambas partes en Agosto de 1979, actualmente en vigencia. El Acta Acuerdo Nº 14 tuvo por objeto realizar estudios conjuntos sobre la ocurrencia de florecimientos de microalgas nocivas, y especialmente de eventos tóxicos en moluscos bivalvos en el área del Canal de Beagle; complementando la capacidad técnica y operativa de ambas partes.

El acuerdo de cooperación fue suscripto por un plazo de dos años, durante el cual se realizaron dos campañas conjuntas para el muestreo y toma de datos de campo; y pasantías en el INIDEP para el adiestramiento de un personal del Laboratorio Ambiental de la S.D.S. y A. en el reconocimiento de especies de dinoflagelados tóxicos y técnicas para el análisis de muestras de fitoplancton. Durante el periodo de duración del plan de investigación convenido en el Acta Acuerdo Nº 14 se llevaron a cabo dos pasantías de capacitación, y se estableció un fluido intercambio de información y consulta que permitió consolidar la capacitación adquirida por el personal de la S.D.S. y A. y conocer la variación de la comunidad fitoplanctónica durante el año.

Se realizaron dos campañas de investigación en el área, en los meses de Diciembre de 2013 y 2014, las muestras obtenidas fueron analizadas en el INIDEP y los resultados parciales remitidos a la S.D.S. y A., presentados en Enero del 2015.

Con respecto al punto b, en la cláusula tercera punto 1, se adjunta a la presente copia del informe preliminar ´´CARACTERISTICAS AMBIENTALES Y ALGAS NOCIVAS EN UN ÁREA DE PRODUCCIÓN DE MOLUSCOS BIVALVOS DEL CANAL BEAGLE, ARGENTINA´´.

En el punto 4 y 5 la información requerida se encuentra detallada en el informe de investigación de ´´MICROALGAS NOCIVAS Y EVENTOS DE TOXICIDAD DE MOLUSCOS BIVALVOS EN EL ÁREA DEL CANAL DE BEAGLE, PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO, E ANTÁRTIDA E ISLAS DEL ATLÁNTICO SUR´´, lo cual se hace entrega de una copia fiel del original anillada.

En la cláusula tercera punto 6, se capacito al agente MSc. Carlos, A., LUIZON, perteneciente en ese momento al Laboratorio Ambiental, S.D.S. y A., tal capacitación fue posible con fondos del Consejo Federal Pesquero, la misma fue realizada en el Laboratorio de Producción Primaria y Biotoxicidad de INIDEP, entre los días 18 y 22 de Noviembre del 2013, la misma tuvo como objetivo el adiestramiento del MSc. LUIZON en el uso de las principales técnicas de muestreo y análisis microscópicos de muestras de

Poder Legislativo FOLIO Nº 5 Secretaria Legislativa

Fitoplancton, y proporcionar los conocimientos básicos para identificar las especies de Dinoflagelados Tóxicos de la Región del Canal Beagle.

La capacitación se efectuó bajo supervisión del Lic. Hugo, BENAVIDES y la colaboración de Dra. Rut AKSELMAN y la Lic. Nora, MONTOYA.

Los resultados parciales alcanzados sirvieron para la elaboración de un trabajo científico: ´´Fitoplancton y toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal de Beagle´´, ese trabajo fue presentado en la ´´IX Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar´´, por los agentes ERIKSSON, Nahuel y LUIZON, Carlos., realizadas en Ushuaia del 20 al 25 de Septiembre de 2015, en las instalaciones del CADIC (CENTRO AUSTRAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS).

Este proyecto se logró culminar gracias al esfuerzo de los agentes ERIKSSON, Nahuel y LUIZON, Carlos, en la logística de las campañas, consiguiendo que la agencia RUMBO SUR, ponga a su disposición las embarcaciones para lograr sin fines de lucro tomar muestras del Canal de Beagle.

Sin otro particular saludo a Ud., atentamente

Nahuel Eriksson
Director General de Laboratorio
de Toxina y Microbiología

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 6
Secretaría Legislativa

CARACTERÍSTICAS AMBIENTALES Y ALGAS NOCIVAS EN UN ÁREA DE PRODUCCIÓN DE MOLUSCOS BIVALVOS DEL CANAL BEAGLE, ARGENTINA

HUGO BENAVIDES[1], NORA G. MONTOYA[1], MARIO CARIGNAN[1] y CARLOS LUIZÓN[2]
[1]Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP),
Paseo Victoria Ocampo Nº 1, Escollera Norte, B7602HSA - Mar del Plata, Argentina
correo electrónico: hbenavid@inidep.edu.ar
[2]Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Tierra del Fuego,
Islas Malvinas 1650, V9420AIW - Río Grande, Argentina

RESUMEN. En diciembre de 2013 se realizó un estudio para conocer las especies de microalgas tóxicas presentes en el área, las distintas toxinas que producen y los factores ambientales que condicionan la distribución de las comunidades de fitoplancton y su estructura. Se observó una alteración en la estructura de la comunidad fitoplantónica respecto al mismo período de años anteriores que indicó un retraso en las primeras etapas de la sucesión clásica. Dicho retraso influyó en el patrón anual de formación de floraciones de especies tóxicas en el canal y, en consecuencia, en los niveles de toxicidad de los bivalvos que normalmente se registran en esa época. El análisis de HPLC mostró escaso número de toxinas paralizantes de moluscos que coincidió con una muy baja concentración de células tóxicas. En las muestras analizadas se detectaron principalmente gonyautoxinas, sin presencia de toxina amnésica de moluscos. Los resultados aportan un conocimiento más detallado del perfil tóxico de los bivalvos de interés comercial en el área, que complementa el programa de monitoreo en curso. El análisis de los parámetros ambientales mostró que el sector interior de Bahía A. Brown es un área con circulación restringida que puede funcionar como reservorio potencial de los estadios bentónicos de resistencia de algunos dinoflagelados, proveyendo un inóculo inicial para la formación de floraciones o de eventos de toxicidad locales. La ausencia de floraciones de especies tóxicas y el bajo nivel de toxicidad de los moluscos del área en ese período se asociaron con las inusuales condiciones climáticas que se registraron en la región durante los meses previos, lo cual advierte sobre la necesidad de contar con un registro continuo de las variables meteorológicas para tratar de predecir la ocurrencia de floraciones de algas nocivas en el canal.

Palabras clave: Canal Beagle, características ambientales, microalgas nocivas, perfil de toxinas.

ENVIRONMENTAL FEATURES AND HARMFUL ALGAE IN AN AREA OF BIVALVE SHELLFISH PRODUCTION OF THE BEAGLE CHANNEL, ARGENTINA

ABSTRACT. In December 2013 a study was carried out with the objective of knowing the toxic microalgae species present in the area, the different toxins they produce and the environmental factors that condition the distribution of phytoplankton communities and their structure. An alteration in the phytoplankton community structure with respect to the same period of previous years indicated a delay in the early stages of the classic succession. Said delay influenced the annual pattern of harmful species blooms formation in the channel and, consequently, the levels of toxicity of the bivalves normally recorded at that time of the year. The HPLC analysis showed a scarce number of paralytic shellfish toxins that coincided with a very low concentration of toxic cells. In the samples analyzed, the toxins detected were mainly gonyautoxins, with no amnesic shellfish toxin. The results contribute a more detailed knowledge of the toxic profile of bivalves of commercial interest in the area that complements the ongoing monitoring program. The analysis

Poder Legislativo FOLIO Nº Secretaría Legislativa

of the environmental parameters showed that the inner sector of A. Brown Bay is an area with restricted circulation that may function as a potential reservoir for the benthic resistance stages of some dinoflagellates, providing an initial inoculum for blooms or local toxicity events formation. The absence of toxic species blooms and the low level of toxicity of the molluscs in the area in that period were associated to unusual climatic conditions registered in the region during the previous months, event that warns about the need to count on a continuous record of the meteorological variables in order to try to predict the occurrence of harmful algae blooms in the channel.

Key words: Beagle Channel, environmental features, harmful microalgae, toxins profile.

INTRODUCCIÓN

Las floraciones de dinoflagelados tóxicos ocurridas en Canal Beagle en los últimos años han causado grandes perjuicios económicos en la pesquería de moluscos bivalvos, obligando a imponer vedas en su recolección y comercialización. En esta región se explota comercialmente el mejillón (*Mytilus chilensis*), obtenido por recolección o cultivo a una escala artesanal. Se estimó que el 31,9% de la producción corresponde al mejillón de cultivo extraído en la zona de Puerto Almanza, en la Bahía A. Brown (Bertolotti et al. 2014), siendo considerada el área de producción más austral del mundo. Las posibilidades para el crecimiento y desarrollo regional de la actividad presentan algunas dificultades relacionadas a la alta frecuencia de eventos tóxicos causados por el florecimiento de microalgas toxicas, conocidos como "marea roja", los que originan vedas que pueden inmovilizar la producción por largos períodos y que habitualmente coinciden con el momento de recolección de la cosecha (Álvarez 2012; Bertolotti et al. 2014).

Las toxinas de mayor riesgo registradas en el Canal Beagle son las denominadas "Toxinas Paralizantes de los Moluscos" (TPM), un grupo de neurotoxinas originadas por dinoflagelados del género *Alexandrium*, que son acumuladas en los moluscos bivalvos por filtración. Aunque los florecimientos de *Alexandrium catenella* fueron registrados en la región de los fiordos chilenos en 1972 (Guzmán y Campodónico 1975; Guzmán y Lembeye 1975), no se detectaron evidencias de toxicidad en las costas de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur hasta fines de 1991. En esta temporada se produjo una intensa marea roja provocada por *A. catenella*, registrándose niveles de toxicidad extremadamente elevados (127.200 µg de STX eq. 100 g^{-1}) (Benavides et al. 1995). Esta marea roja produjo un gran impacto social y económico en la región, causando varias muertes humanas, numerosas intoxicaciones y mortandad de organismos marinos. A partir de ese suceso, el florecimiento de microalgas tóxica en la costa argentina del canal se repitió anualmente con mayor o menor intensidad. Otras especies nocivas, como algunos dinoflagelados del Género *Dinophysis*, han sido detectadas posteriormente en la región, ocasionando vedas por "Toxina Diarreica de Moluscos" (TDM) (Almandoz et al. 2011; Álvarez 2012; Goya y Maldonado 2014). Recientemente se detectó en el canal la presencia de Toxina Amnésica de Moluscos (TAM) (Krock et al. 2015; Almandoz et al. 2017) producida por algunas especies de diatomeas del Género *Pseudo-nitzschia*, aunque aún no se han identificado las especies responsables. También en esta región se han detectado, por primera vez en el país, toxinas del grupo "espirólido" en mejillones y en muestras naturales de fitoplancton (Montoya et al. 2012; Almandoz et al. 2014). Los espirólidos son un grupo de toxinas marinas producidas por algunos dinoflagelados y conocidas como "toxinas de rápida acción" por su inmediato efecto letal en los bioensayos, siendo *A. ostenfeldii* la especie identificada como productora en el Canal Beagle. Esta especie fue también asociada a la producción de TPM, presentando una gran variabilidad en la

Poder Legislativo FOLIO Nº 8 Secretaría Legislativa

producción de uno u otro grupo de toxinas de acuerdo con su localización geográfica (Cembella et al. 2000; Touzet et al. 2008; Kremp et al. 2009).

Entre los días 7 y 20 de diciembre de 2013, se realizó una campaña de investigación en el área de Canal Beagle con el objetivo de identificar las especies tóxicas o potencialmente tóxicas presentes en el plancton y los factores ambientales asociados a su desarrollo, conocer su perfil de toxinas y las transformaciones que estas experimentan al ser metabolizadas por organismos de diferentes niveles tróficos. También se aislaron especies de microalgas nocivas, cuyos cultivos fueron empleados para realizar estudios autoecológicos y que permitieron analizar en detalle las características fisiológicas y químicas de algunas de las especies que periódicamente ocasionan eventos tóxicos en Canal Beagle.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en un área del sector argentino del Canal Beagle correspondiente a la Bahía A. Brown (54° 52,50' S-67° 33,50' W), principal área de cultivo y extracción comercial de moluscos bivalvos en la región (Figura 1).

Se realizaron 14 estaciones de muestreo en el área de Bahía A. Brown y su sistema de drenaje (Figura 1). Las estaciones 5, 6 y 7 se ubicaron en la boca de la bahía, de la cuales la estación 6 fue realizada en las proximidades de una balsa de cultivo de mejillones fijada en el sector central de la bahía. Las estaciones 8, 9 y 10 se ubicaron en el sector central y 11, 12 y 13 en el sector interno. También se realizaron dos estaciones entre la Isla Upú y la Isla Waru (estaciones 17 y 18) y tres en el Paso R. Guaraní medio (estaciones 14, 15 y 16). Con el objetivo de evaluar la variación de los parámetros ambientales en el corto plazo y su relación con la estructura del fitoplancton, el muestreo realizado previamente en las estaciones 6, 11, 14 y 17 fue repetido después de un período de 7 d (estaciones 22, 23, 24 y 25).

Metodología

En cada estación de muestro se estableció la posición geográfica (GPS), se registraron las variables ambientales, se tomaron muestras de fitoplancton cuantitativas y de red, y se colectaron muestras de mejillones en los bancos naturales o de la balsa de cultivo. En las estaciones 4, 6, 14, 22 y 25 se obtuvieron muestras de zooplancton y de fitoplancton por fracciones de tamaño para análisis de toxinas; y muestras para análisis de nutrientes y pigmentos fotosintéticos. La obtención de las muestras y medición de parámetros ambientales fueron realizadas empleando una embarcación semirígida.

Parámetros ambientales

Se registraron perfiles verticales de temperatura y conductividad del agua mediante un CTD autocontenido *Citadel-NV*, empleando una frecuencia de 25 muestras s^{-1} y una velocidad de descenso aproximada de 50 cm seg^{-1}. Se tomaron muestras de 250 mL de agua de mar para la determinación de salinidad, con el fin de calibrar las mediciones realizadas en los perfiles verticales de CTD.

Se tomaron muestras de agua superficial para análisis de pigmentos y de nutrientes en la entrada de Bahía A. Brown y Paso R. Guaraní medio. Para el análisis de pigmentos, muestras de 1,5 l de agua fueron previamente tamizadas con una malla de 80 µm y posteriormente filtradas por filtros de fibra de vidrio Wathman GF/F. Los filtros se almacenaron a -20 °C para su posterior análisis en laboratorio por HPLC (Zapata et al. 2000). Para el análisis de nutrientes, 10 mL de cada muestra fueron filtrados por filtros de fibra de vidrio Wathman GF/F y almacenados a -20 °C. El análisis de nutrientes (fosfato, silicato, nitrato y

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 91
Secretaría Legislativa

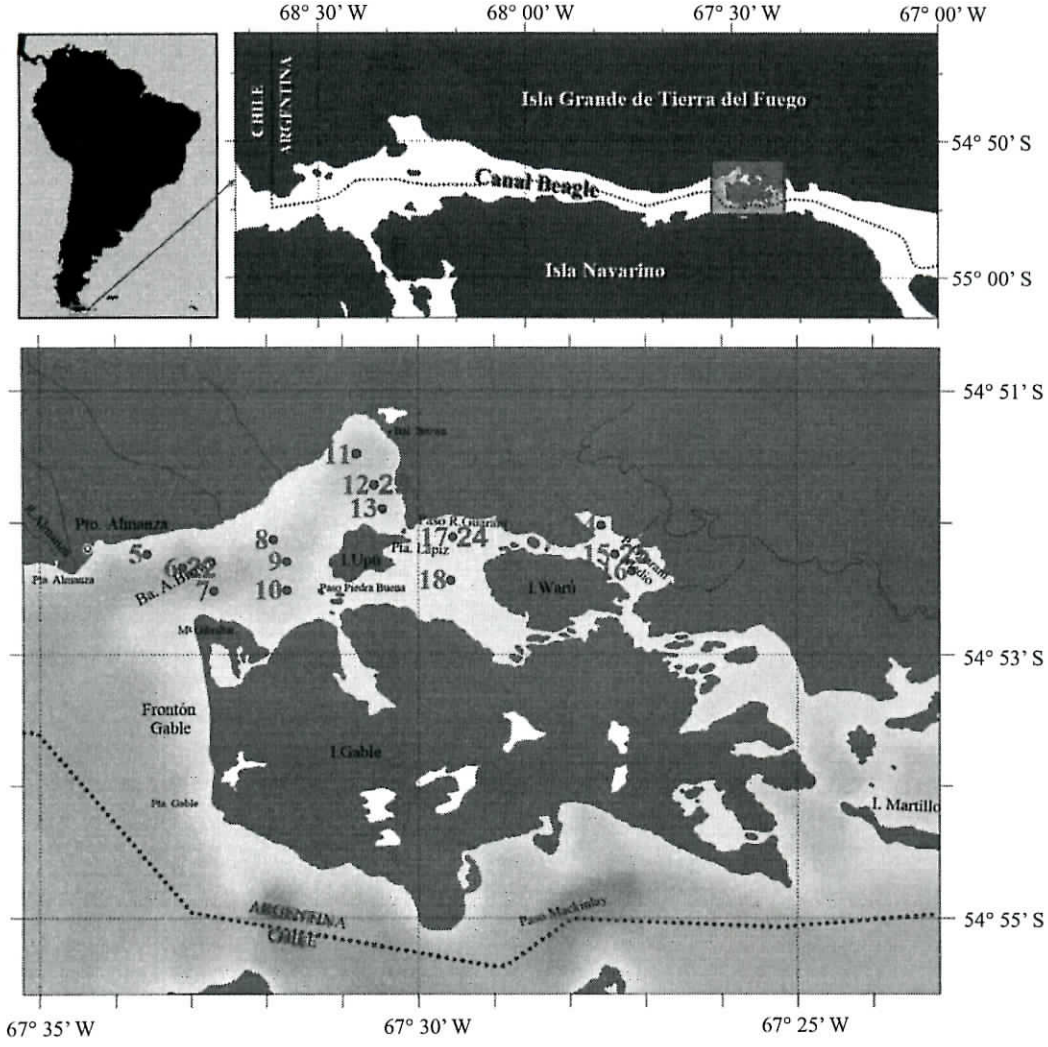


Figura 1. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo realizadas en Bahía A. Brown el 10 de diciembre (estaciones 5 a 18) y 17 de diciembre (estaciones 22 a 25).

Figure 1. Geographical location of sampling stations carried out in A. Brown Bay on December 10th (stations 5 through 18) and December 17th (stations 22 through 25).

nitrito) se realizó mediante un autoanalizador Technicon TA II (Grasshoff y Ehrhardt 1983; Hydes et al. 2010).

Información climatológica

El análisis de las condiciones climáticas fue realizado empleando los registros atmosféricos obtenidos por la estación meteorológica Ushuaia Aerodrome 879380 (SAWH) ubicada en el aeropuerto internacional de la ciudad de Ushuaia (SMN 2013).

Análisis de toxinas

Para el análisis de toxinas en bivalvos, se colectaron muestras de aproximadamente 2 kg de mejillón (*M. chilensis*) y/o cholga (*Aulacomya*

Poder Legislativo FOLIO Nº 10 Secretaría Legislativa

atra) de los bancos naturales próximos a las estaciones de toma de muestras de fitoplancton y de la balsa de cultivo situada en la entrada de Bahía A. Brown. Con el objetivo de estudiar la evolución temporal de la toxicidad, se analizaron muestras de mejillones y cholgas correspondientes al período julio-diciembre de 2013. Las muestras para la determinación de TPM fueron analizadas con el método oficial de bioensayo con ratones (AOAC 1985) y por HPLC (Oshima 1995). Se emplearon las siguientes abreviaturas: Gonyautoxinas 4, 2, 3, y 1 = GTX4, GTX2, GTX3, GTX1 respectivamente, neosaxitoxina = neoSTX, y saxitoxina = STX. El análisis de TAM por HPLC en todas las muestras de bivalvos se realizó según el método de Wright et al. (1995).

Para el análisis de toxinas en plancton se colectaron muestras de diferentes fracciones de tamaño en la entrada de Bahía A. Brown y Paso R. Guaraní medio. En cada muestra, 20 l de agua fueron tamizados sucesivamente por mallas de 150 µm, 65 µm y 20 µm. El material retenido (fracción 65-20 µm), fue re suspendido y llevado a un volumen final de 300 mL con agua de mar filtrada, preservándose una alícuota de 50 mL de esta suspensión en formol 4% para el recuento de células fitoplanctónicas. Los 250 mL restantes se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F para el análisis de toxinas. 1,5 l del agua pasada por el tamiz de 20 µm se filtró por Whatman GF/F para estudiar las toxinas en esta fracción de plancton (fracción < 20 µm).

Análisis de fitoplancton

Se tomaron muestras de fitoplancton con red de 20 µm de malla mediante barridos horizontales. Una fracción fue mantenida viva para la observación de organismos delicados y formas flageladas, y otra fracción preservada con formaldehído neutralizado al 4%. También se tomaron alícuotas de 250 ml de agua de superficie que fueron fijadas con solución de Lugol (Utermöhl 1958) para el análisis cuantitativo.

Las muestras de red fueron examinadas con microscopía de campo claro, contraste de fases, contraste diferencial de interferencia (DIC) y epifluorescencia. Las diatomeas fueron tratadas con una solución de NaClO, lavadas con agua destilada (Ferrario et al. 1995) y montadas en Styrax. Se empleó microscopía electrónica de barrido (MEB) para tratar de identificar algunas especies, pero las muestras no pudieron ser observadas satisfactoriamente debido a la muy baja silicificación de los frústulos, que disminuyó marcadamente su resistencia a los tratamientos de limpieza usados rutinariamente (Simonsen 1974; Ferrario et al. 1995).

Para la identificación de dinoflagelados se empleó una tinción de las tecas con Lugol, o mediante Calcofluor según la técnica descripta por Fritz y Trimer (1985). El análisis cuantitativo de las muestras se realizó con un microscopio invertido (Utermöhl 1958).

Aislamiento de especies de microalgas

Se aislaron microalgas tóxicas presentes en las muestras de fitoplancton destinadas a su cultivo bajo condiciones controladas. Los cultivos fueron mantenidos en medio L1 a 11 °C de temperatura, 30 de salinidad y un ciclo de luz/oscuridad de 14/10 h. Los cultivos en fase de crecimiento exponencial fueron utilizados para identificar y cuantificar las diferentes toxinas, la composición de los pigmentos fotosintetizadores y la composición de aminoácidos similares a micosporinas (MAAs) por HPLC.

Para el análisis de MAAs por HPLC, 50 mL de cada cultivo fueron filtrados por filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F, extraídos con 2 mL de metanol 100% siguiendo el método de Carreto et al. (2005). Para el análisis de toxinas y pigmentos por HPLC, alícuotas de 50 ml de cultivo fueron filtrados por filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F, para luego continuar con la metodología descripta para el análisis de fitoplancton.

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 11
Secretaría Legislativa

RESULTADOS

Características ambientales

Se registraron 14 perfiles de CTD en Bahía A. Brown y su sistema de drenaje para conocer la distribución vertical y horizontal de la temperatura, salinidad y densidad. La profundidad del fondo varió entre una máxima de 24 m en la entrada de Bahía A. Brown (estaciones 6 y 7), y una mínima de 1,5 m en el Paso R. Guaraní (estación 14).

La distribución superficial de temperatura mostró un incremento gradual hacia el interior de la bahía (Figura 2 A). La menor temperatura (7,19 °C) se registró en la entrada, en el sector adyacente a Isla Gable, relacionada al ingreso de agua proveniente del flujo principal del canal. En el sector interior de la bahía se registró una temperatura de 7,68 °C en las proximidades de la Bahía A. Brown. En el Paso R. Guaraní se registraron temperaturas mayores de 8 °C, formando en su entrada un gradiente térmico con el agua de la bahía (este de la Isla Upú). Hacia el interior del paso, la temperatura alcanzó un máximo de 8,9 °C, en correspondencia con la mínima profundidad del área (1,5 m), disminuyendo nuevamente hacia el Este por influencia del agua del canal.

La distribución superficial de salinidad mostró un gradiente superficial muy marcado en la zona externa de la bahía, donde se registró la menor salinidad del área (29,74) en el sector costero cercano a Punta Almanza, debida a la desembocadura del Río Almanza situada a corta distancia de la estación 5 (Figura 2 B). Inversamente, sobre el margen opuesto (Isla Gable) se registró la mayor salinidad del área (30,67) relacionada al agua externa del canal. A partir de este sector externo, la salinidad disminuyó gradualmente hacia el interior de la bahía (30,31) y hacia el Paso R. Guaraní, donde se registraron salinidades alrededor de 30,2.

La distribución vertical de los parámetros ambientales mostró que la capa superficial de baja salinidad, registrada en la entrada de la bahía, ocupó los primeros 1,5 m de profundidad en la estación 5 (Figura 3). La baja salinidad del agua (29,75) determinó la menor densidad (Sigma-T) de esta capa (σ_t = 23,2 kg m^{-3}), formando una picnoclina con el agua inferior con una densidad entre σ_t = 23,6 kg m^{-3} y σ_t = 23,9 kg m^{-3} sobre el fondo. Esta capa superficial de menor densidad se manifestó débilmente en el registro térmico, el cual mostró una leve termoclina (0,1 °C m^{-1}). Debajo de esta, se observó una disminución gradual de la temperatura con la profundidad (entre 7,4 °C y 7,0 °C) hasta los 16 m. A partir de esta profundidad, se observó una capa de mayor densidad (σ_t = 24,06 kg m^{-3}) donde la temperatura y la salinidad se mantuvieron casi constantes hasta el fondo (temperatura: 6,8 °C, salinidad: 30,71). Hacia la zona media de la entrada (estación 6) la señal de baja salinidad superficial se vio debilitada (30,24), incrementándose la densidad de la capa superficial (σ_t = 23,61 kg m^{-3}), y atenuada completamente (30,65) en el margen opuesto (Isla Gable) (estación 7). En esta estación, se diferenció una capa superficial hasta los 9,5 m de profundidad, definida principalmente por la temperatura. La capa de mezcla presentó una salinidad de 30,66 y una temperatura de 7,2 °C, separada por una leve termoclina (0,1 °C m^{-1}) de la capa de fondo (salinidad: 30,75, temperatura: 6,8 °C) a partir de los 12 m de profundidad.

En la zona central de la bahía, la señal de baja salinidad superficial registrada en la estación 5 se encontró también atenuada en la estación más cercana a la costa de Puerto Almanza (estación 8), con valores de 30,42 hasta 3,5 m de profundidad. No obstante, el perfil de salinidad en esta estación mostró dos haloclinas La primera se localizó entre los 3,5 y 7 m de profundidad, asociada a la capa superficial de baja salinidad proveniente de la desembocadura del Río Almanza (Figura 4), y la segunda se registró a los 17 m, separando el agua de profundidad intermedia de una capa de

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 12
Secretaría Legislativa

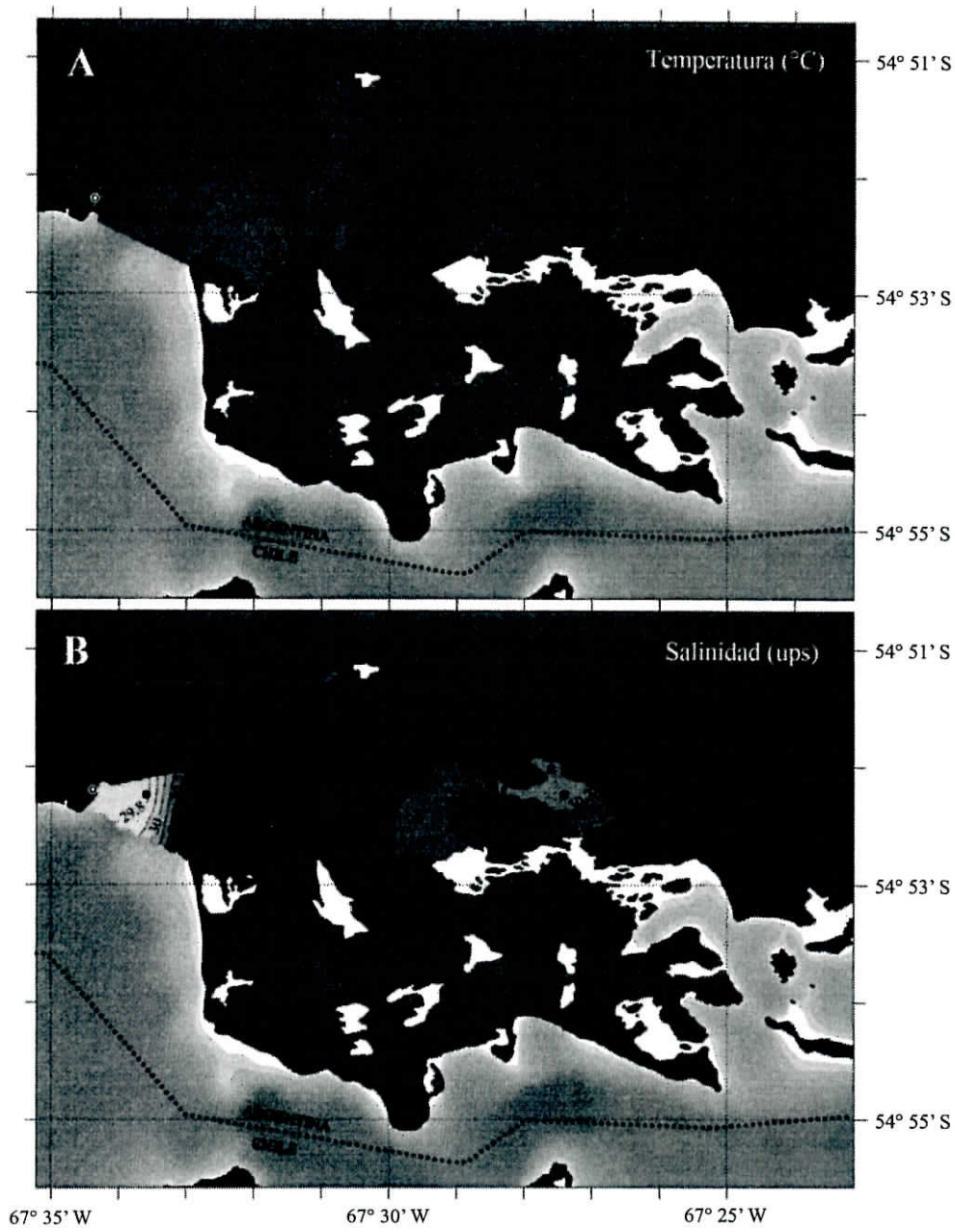


Figura 2. Distribución superficial de temperatura (°C) (A) y salinidad (B) en el área de Bahía A. Brown y su sistema de drenaje.
Figure 2. Surface distribution of temperature (°C) (A) and salinity (B) in the area of A. Brown Bay and its drainage system.

fondo de mayor salinidad (> 30,7), la cual se encontró definida en el registro térmico por una leve termoclina a 17 m de profundidad (Figura 4) y 3,5 m sobre el fondo.

En la estación central (estación 9), la señal de baja salinidad superficial se manifestó débilmente hasta 0,5 m. La capa de fondo, de mayor densidad, fue registrada a partir de 18 m, con un espe-

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 13
Secretaría Legislativa

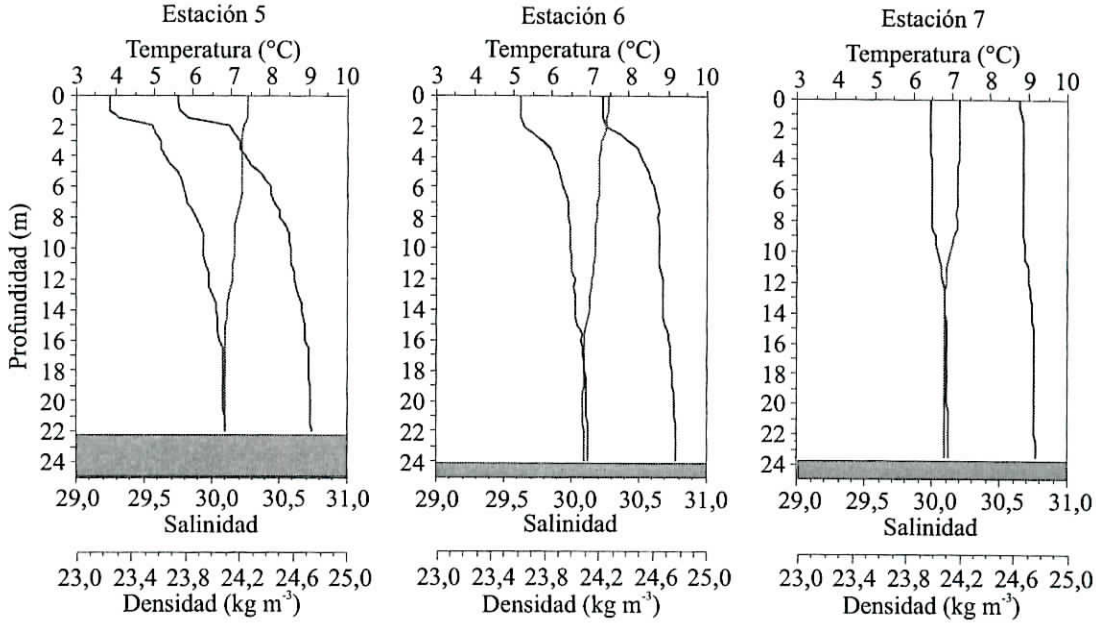


Figura 3. Distribución vertical de temperatura, salinidad y densidad σ_t en las estaciones 5, 6 y 7 ubicadas en la entrada de Bahía A. Brown.

Figure 3. Vertical distribution of temperature, salinity and density σ_t in stations 5, 6 and 7 located at the entrance of A. Brown Bay.

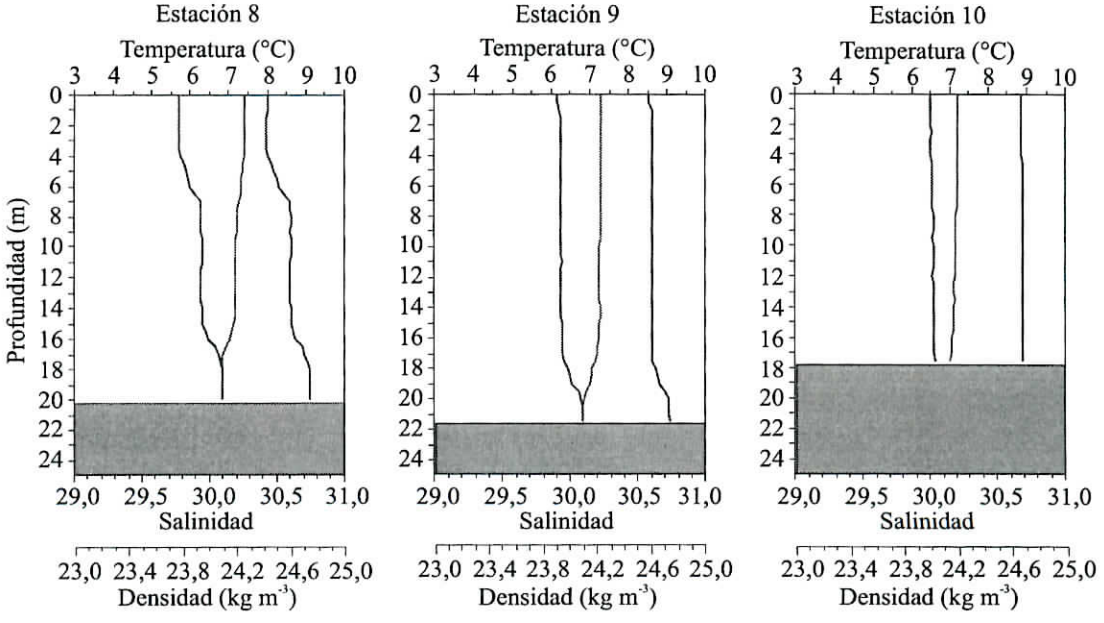


Figura 4. Distribución vertical de temperatura, salinidad y densidad σ_t en las estaciones 8, 9 y 10 realizadas en el sector medio de Bahía A. Brown.

Figure 4. Vertical distribution of temperature, salinity and density σ_t at stations 8, 9 and 10 carried out in the middle sector of A. Brown Bay.

Poder Legislativo FOLIO Nº 14 Secretaría Legislativa

sor de 2 m sobre el fondo. En la estación 10, próxima a la costa de la Isla Gable, los parámetros ambientales mostraron una completa homogeneidad vertical (salinidad: 30,68, temperatura: 7,1 °C) (Figura 4).

En el sector interior de la bahía (estaciones 11, 12 y 13) la circulación más restringida posibilitó el desarrollo de una capa superficial más definida por la menor salinidad (30,31) y mayor temperatura (7,6 °C), limitada por una termoclina a 9 m de profundidad (0,3 °C m^{-1}) (Figura 5). En la estación 11, próxima a Bahía A. Brown, la distribución vertical de salinidad mostró una leve disminución en el primer metro superficial, probablemente debida al aporte de agua de deshielo producido por los arroyos y chorrillos que desembocan en la costa.

Los perfiles realizados en el Paso R. Guaraní mostraron una completa mezcla vertical (estaciones 14, 15, 16 y 18) (Figuras 6 y 7) debida a la baja profundidad; excepto el correspondiente a la estación 17 (Figura 7) próxima a la Punta Lápiz, donde se observó una leve disminución de la salinidad superficial similar a la observada en la estación 11. Las temperaturas registradas en todo este sector fueron mayores de 8,0 °C. Las mediciones realizadas en el Paso R. Guaraní medio se caracterizaron además por la menor densidad del agua, determinada principalmente por la mayor temperatura, con un máximo de 8,9 °C en la estación de más baja profundidad (estación 14) (Figura 6).

Nutrientes inorgánicos

En forma general, se observó una alta concentración de silicato en todas las muestras analizadas (> 10,7 µM), producida por el aporte de aguas de deshielo continental a través de los ríos y chorrillos que desembocan en la costa del canal. El anión fosfato presentó bajas concentraciones (< 0,2 µM) y escasa variabilidad entre estaciones y en el tiempo. Esta escasa variabilidad es también

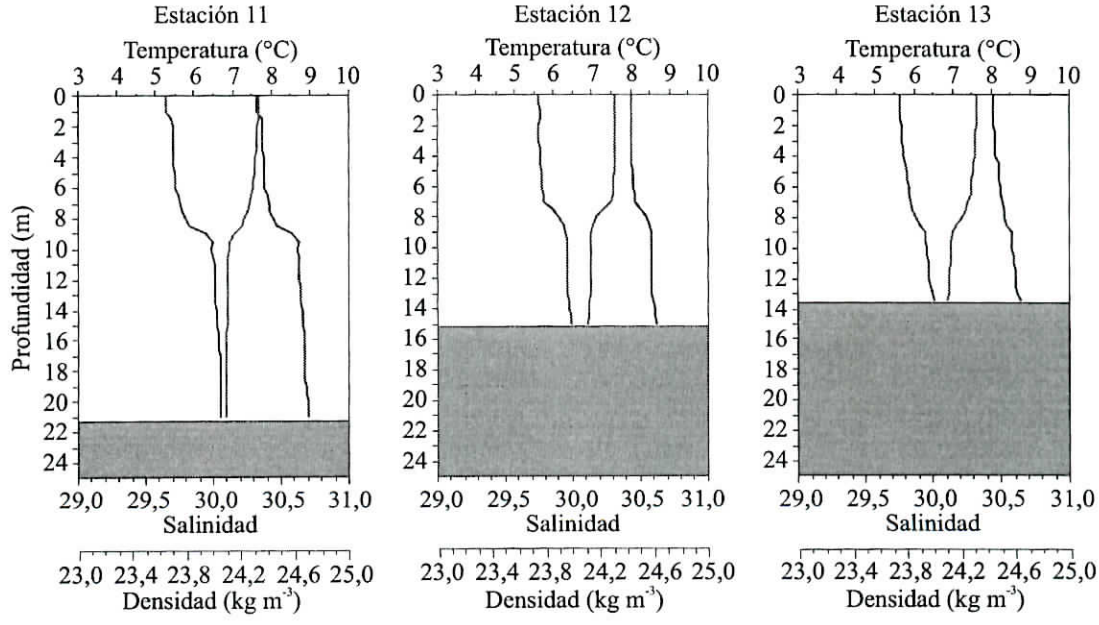


Figura 5. Distribución vertical de temperatura, salinidad y densidad σ_t en las estaciones 11, 12 y 13 realizadas en el sector interior de Bahía A. Brown.

Figure 5. Vertical distribution of temperature, salinity and density σ_t at stations 11, 12 and 13 carried out in the inner sector of A. Brown Bay.

Poder Legislativo FOLIO Nº 15 Secretaría Legislativa

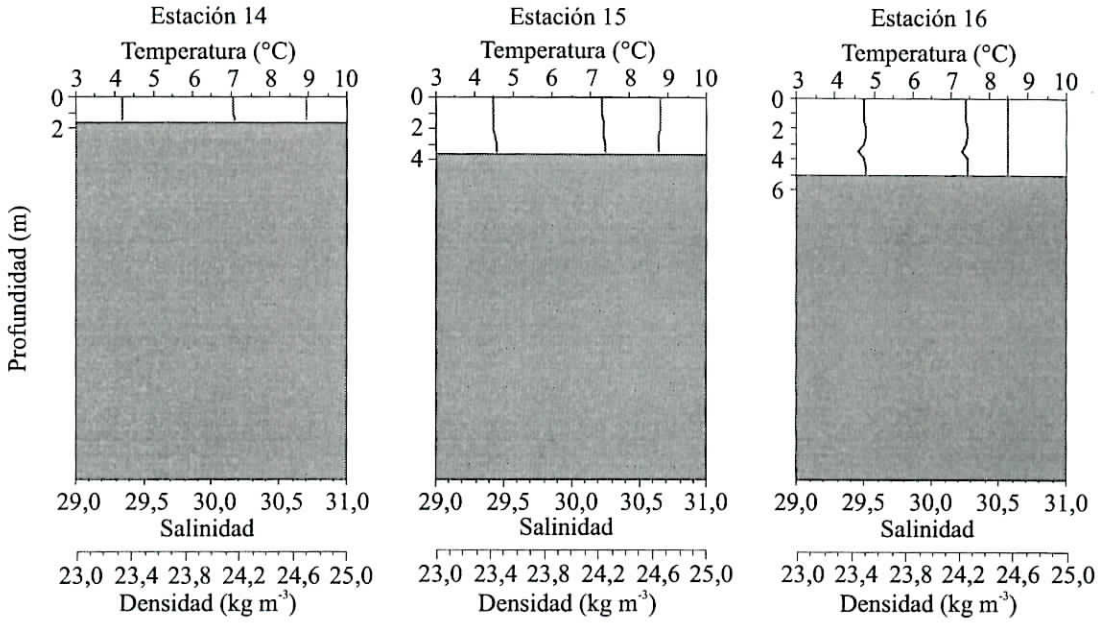


Figura 6. Distribución vertical de temperatura, salinidad y densidad σ_t en las estaciones 14, 15 y 16 realizadas en Paso R. Guaraní medio.

Figure 6. Vertical distribution of temperature, salinity and density σ_t at stations 14, 15 and 16 carried out in the middle of R. Guaraní Strait.

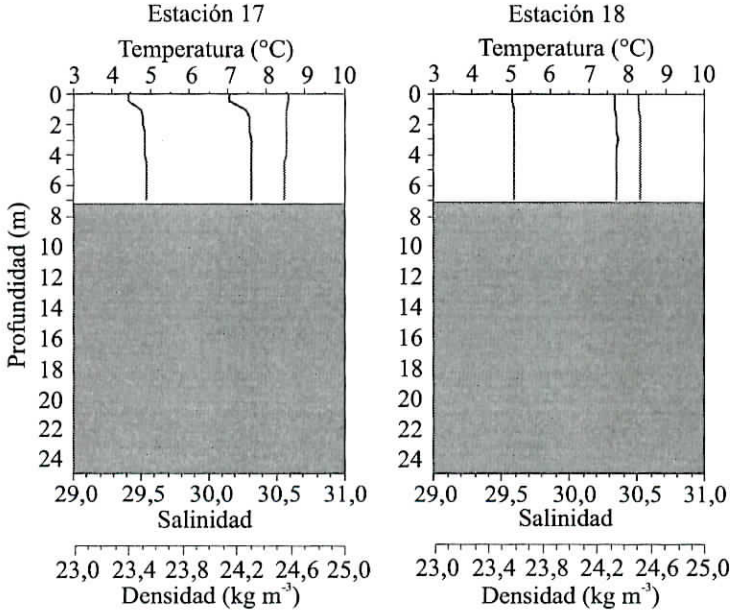


Figura 7. Distribución vertical de temperatura, salinidad y densidad σ_t en las estaciones 17 y 18 realizadas en Paso R. Guaraní entre la Isla Upú y la Isla Warú.

Figure 7. Vertical distribution of temperature, salinity and density σ_t at stations 17 and 18 carried out in R. Guaraní Strait between Upú Island and Warú Island.

Poder Legislativo FOLIO Nº 16 Provincia Legislativa

común para el anión nitrito. La Bahía A. Brown presentó los valores máximos y mínimos de nitrato registrados (11,21 µM y 0,56 µM) mostrando una brusca disminución de los mismos en el tiempo, propiedad compartida con el Paso R. Guaraní (Tabla 1). Este marcado descenso en la concentración del nitrato probablemente tenga su explicación en el consumo de este macronutriente ocasionado por el crecimiento del fitoplancton del área durante este período.

Análisis de la información climatológica

Los registros atmosféricos obtenidos por la estación meteorológica 879380 (SAWH) del aeropuerto de la ciudad de Ushuaia también mostraron que, tanto la temperatura media como la máxima media y la mínima media durante los meses de primavera de 2012 a 2014, estuvieron por debajo de las respectivas medias históricas. y el valor promedio de la velocidad del viento en este período fue superior al valor medio histórico (Figura 8).

Análisis de fitoplancton

Se identificó un total de 64 especies de fitoplancton, pertenecientes a los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados, Cryptophytas, Prasinophytas y Cyanoprocariotas (Tabla 2).

Los recuentos celulares mostraron una dominancia casi completa de diatomeas en las muestras obtenidas en el área de Bahía A. Brown el día 10 de diciembre, con una abundancia relativa de 98,8%. El resto de los grupos observados presentaron una muy baja abundancia relativa, con niveles menores de 1%, excepto en la muestra colectada en el Paso R. Guaraní medio, donde las Prasinophytas mostraron una abundancia relativa de 1,8%.

En las muestras colectadas en el área de Bahía A. Brown una semana después (17 de diciembre), las diatomeas mostraron también una dominancia muy marcada dentro de la comunidad fitoplanctónica, con una abundancia relativa alrededor del 98% en la entrada de la bahía y en el Paso R. Guaraní medio, que disminuyó en el interior de la bahía (84,1%) debido a una población de una Cyanoprocariota solitaria, *Synechocystis* cf. *salina*, que alcanzó una abundancia relativa de 15,2%. A pesar de su abundancia relativa en términos de biomasa, su abundancia fue poco significativa debido al reducido tamaño de las células de *Synechocystis* (2,5 µm de diámetro). En la muestra tomada en la estación contigua (Punta Lápiz) la comunidad fitoplanctónica presentó una estructura similar, con una abundancia relativa de diatomeas de 86,1% y de *Synechocystis* de 12,7%. La concentración celular de *Synechocystis* en el plancton disminuyó marcadamente en la muestra tomada en el Paso R. Guaraní medio (abundancia relativa 0,8%), donde las diatomeas

Tabla 1. Concentración de nutrientes inorgánicos disueltos en la superficie de las estaciones seleccionadas.
Table 1. Concentration of inorganic nutrients dissolved on the surface of the selected stations.

Estación	Lugar	Fecha	Nitrato (µM)	Nitrito (µM)	Fosfato (µM)	Silicato (µM)
6	Bahía A. Brown (entrada)	10-12-2013	11,21	1,99	0,20	32,15
22	Bahía A. Brown (entrada)	17-12-2013	0,56	1,36	0,10	10,70
14	Paso R. Guaraní medio	10-12-3013	8,76	1,01	0,19	23,39
25	Paso R. Guaraní medio	17-12-2013	1,74	1,58	0,12	13,78

Poder Legislativo FOLIO Nº 17 Secretaría Legislativa

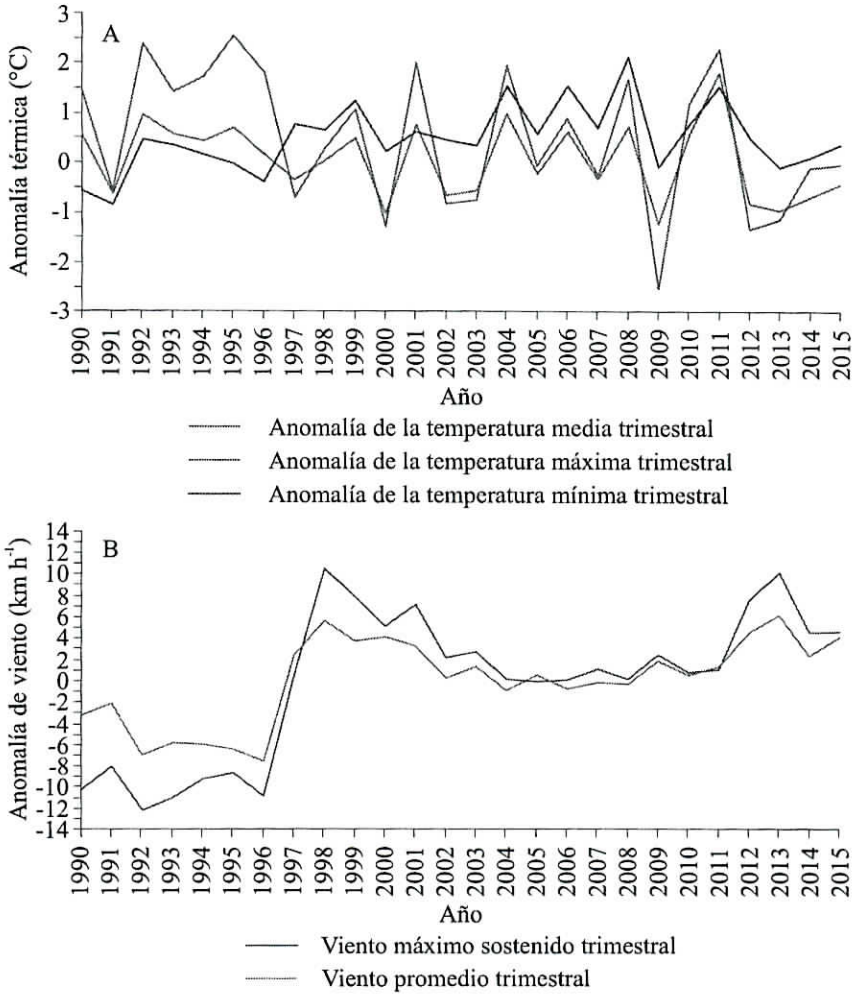


Figura 8. Anomalías de temperatura (A) y viento (B). Registros históricos reportados por la estación meteorológica aeroportuaria de Ushuaia (879380 SAWH). Septiembre-noviembre 1990-2015.

Figure 8. Temperature (A) and wind (B) anomalies. Historical records reported by the Ushuaia airport meteorological station (879380 SAWH). September-November 1990-2015.

dominaron completamente la comunidad (98,1%) (Tabla 3).

Los recuentos celulares mostraron que la alta dominancia de diatomeas en las muestras tomadas el día 10 de diciembre en el área de Bahía A. Brown fue principalmente debida a cuatro especies del Género *Chaetoceros*: *C. socialis*, *C. decipiens*, *C. lorenzianus* y *C. similis*. En la entrada de la bahía se registró una densidad celular entre $1,2 \times 10^6$ cél. l^{-1} (*C. decipiens*) y $2,1 \times 10^4$ cél. l^{-1} (*C. similis*). Tanto en el interior de la bahía como en las muestras tomadas en Punta Lápiz y en el Paso R. Guaraní medio, la densidad celular presentó un rango entre $1,6 \times 10^6$ cél. l^{-1} (*C. socialis*) y $8,2 \times 10^4$ cél. l^{-1} (*C. similis*). El resto de las especies de diatomeas presentes en las muestras mostraron densidades menores que 1×10^4 cél. l^{-1}, excepto *Leptocylindrus minimum* en la entrada de la Bahía A. Brown ($1,1 \times 10^4$ cél. l^{-1}) y *Cerataulina pelágica* en la entrada e interior de la misma ($1,6 \times 10^4$ cél. l^{-1}).

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 18
Secretaría Legislativa

Tabla 2. Porcentajes de abundancia relativa de los distintos grupos de fitoplancton en las muestras obtenidas.
Table 2. Percentages of relative abundance of the different phytoplankton groups in the samples collected.

Grupos	Estación 6 Bahía A. Brown (entrada)	Estación 11 Bahía A. Brown (interior)	Estación 17 Punta Lápiz	Estación 14 Paso R. Guaraní	Estación 22 Bahía A. Brown (entrada)	Estación 23 Bahía A. Brown (interior)	Estación 24 Punta Lápiz	Estación 25 Paso R. Guaraní (medio)
Diatomeas	98,5	99,3	99,5	98,0	97,6	84,0	86,2	98,1
Dinoflagelados	0,4	0,1	0,1	0,2	0,6	0,2	0,7	0,4
Cryptophytas	0,2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Prasinophytas	0,9	0,4	0,3	1,8	1,2	0,5	0,4	0,7
Silicoflagelados	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cyanoprocariotas	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	15,2	12,7	0,8

Otros grupos fitoplanctónicos no mostraron una concentración celular significativa, salvo las Prasinophytas en la entrada e interior de Bahía A. Brown, principalmente representadas por *Pyramimonas* sp. ($6,1 \times 10^4$ cél. l^{-1}). Entre las especies tóxicas o potencialmente tóxicas de fitoplancton solo se observó una muy baja densidad de los dinoflagelados *A. ostenfeldii* y *Prorocentrum minimum* en la entrada e interior de la bahía, con densidades máximas de 120 cél. l^{-1} y 7.147 cél. l^{-1} respectivamente; y *P. lima* en la entrada de la bahía y el Paso R. Guaraní medio (1.021 cél. l^{-1}). También se registraron densidades significativas de cuatro especies de diatomeas del género *Pseudo-nitzschia*, potencialmente productoras de toxina amnésica de moluscos (TAM), con una densidad máxima de $1,0 \times 10^5$ cél. l^{-1} en el interior de la bahía.

En las muestras tomadas el día 17 de diciembre en Bahía A. Brown, también se observó una marcada dominancia de las especies de *Chaetoceros* mencionadas con una disminución en sus densidades máximas, con un rango entre $1,1 \times 10^6$ cél. l^{-1} (*C. socialis*) y $1,2 \times 10^5$ cél. l^{-1} (*C. lorenzianus*) en Punta Lápiz. En el Paso R. Guaraní medio, *C. decipiens* y *C. similis* presentaron una densidad máxima de $3,1 \times 10^4$ cél. l^{-1}. También se observó un aumento significativo en la densidad de las diatomeas *Striatella unipunctata* ($2,3 \times 10^5$ cél. l^{-1}), *Leptocylindus danicus* ($2,3 \times 10^5$ cél. l^{-1}) y *L. minimus* ($2,3 \times 10^5$ cél. l^{-1}) respecto al muestreo previo. La Prasinophyta *Pyramimonas* sp. mostró una disminución de densidad, principalmente en la entrada de la bahía y en el Paso R. Guaraní medio. Considerando las especies de fitoplancton tóxicas o potencialmente tóxicas, se observó la presencia de *A. ostenfeldii* en toda el área, aunque con muy baja densidad. La máxima densidad (320 cél. l^{-1}) se registró en el interior de la bahía, disminuyendo hacia la entrada (80 cél. l^{-1}) y hacia el Paso R. Guaraní medio (200 cél. l^{-1}). *P. lima* solo fue registrado en el Paso R. Guaraní medio (40 cél. l^{-1}) y *P. minimum* presentó mayores densidades en el interior de la bahía y Punta Lápiz (4.084

Poder Legislativo FOLIO Nº 19 Secretaría Legislativa

Tabla 3. Especies identificadas en las muestras de fitoplancton.
Table 3. Species identified in the phytoplankton samples.

Diatomeas	Dinoflagelados
Amphora sp.	*Alexandrium ostenfeldii*
Chaetoceros decipiens	*Anphidinium carterae*
Chaetoceros lorenzianus	*Gymnodinium* spp.
Chaetoceros similis	*Gyrodinium fusus*
Chaetoceros diadema	*Gyrodinium* sp.
Chaetoceros socialis	*Oxytoxum* sp.
Chaetoceros cf. *convolutus*	*Prorocentrum lima*
Corethron kriophyllum	*Prorocentrum compressum*
Corethron histrix	*Prorocentrum minimum*
Coscinodiscus radiatus	*Protoperidinium cuspidatum*
Coscinodiscus sp.	*Protoperidinium metananum*
Ceratoneis closterium	*Protoperidinium nudum*
Cerataulina pelagica	*Protoperidinium simulum*
Fragilaria sp.	*Protoperidinium* sp.
Guinardia delicatula	*Scrippsiella patagonica*
Haslea sp.	Cyanoprocariotas
Leptocylindrus danicus	*Synechocystis* cf. *salina*
Leptocylindrus minimus	Cryptophytas
Lycmophora sp.	*Cryptomnadales*
Navicula sp.	Silicoflagelados
Thalassiothrix sp.	*Dictiocha speculum*
Pleurosigma normanii	Prasinophytas
Pseudo-nitzschia spp.	*Tetraselmis* sp.
Rhizosolenia setigera	*Pyramimonas* sp.
Skeletonema costatum	Ciliophora
Stephanopixis turris	*Myrionecta rubra*
Sriatella unipunctata	
Thalassiosira sp.	
Thalassionema nitzschioides	

cél. l^{-1}). Las especies del Género *Pseudo-nitzschia* presentaron densidades similares a las registradas en las muestras tomadas el día 10 de diciembre, con una leve disminución en el Paso R. Guaraní medio ($9,4 \times 10^3$ cél. l^{-1}).

Otras diferencias significativas respecto al muestreo anterior fueron la presencia de *Synechocystis* cf. *salina*, cuyas mayores densidades se ubicaron en el interior de la bahía y Punta Lápiz ($3,9 \times 10^5$ cél. l^{-1}), y también el desarrollo de una población del ciliado *Myrionecta rubra* en toda el área de Bahía A. Brown con una densidad máxima de $2,7 \times 10^4$ cél. l^{-1} en el interior de la bahía. Si bien *M. rubra* no pertenece a la comunidad fitoplanctónica, fue considerado en los recuentos celulares por ser un ciliado fotosintético con plás-

Poder Legislativo FOLIO Nº 20 Secretaría Legislativa

tidos endosimbióticos, directamente relacionado a varias especies tóxicas del genero *Dinophysis* que constituyen una presa indispensable para su crecimiento (Nagai et al. 2008).

Análisis de pigmentos

Se identificaron 15 pigmentos diferentes en las cuatro muestras analizadas (Tabla 4). La mayor concentración de clorofila *a* (5,298 μg l^{-1}) se halló en la muestra tomada el 17 de diciembre en la entrada de Bahía A. Brown (estación 22), donde se encuentra la balsa de cultivo de mejillones (Tabla 4). Esta biomasa fitoplanctónica se corresponde con la mayor concentración de diatomeas, por lo que también coincide con la mayor concentración de fucoxantina (2,11 μg l^{-1}). Otros pigmentos marcadores de grupos fitoplanctónicos fueron hallados en menor proporción. Peridinina, carotenoide marcador de dinoflagelados, solo fue detectado en Bahía A. Brown el 17 de diciembre, mientras que 19'-hexanoiloxifucoxantina (Hex-fuco), marcador de Haptophytas, fue detectado únicamente en Paso R. Guaraní medio el 10 de diciembre. Zeaxantina, presente principalmente en Cyanoprocariotas, solo fue hallado en el Paso R. Guaraní medio el 10 de diciembre, aunque este pigmento es fuertemente variable dependiendo de las condiciones de luz.

Análisis de toxinas

Dado que no se registraron concentraciones importantes de microalgas nocivas en ninguna de las estaciones examinadas, el análisis de toxinas por HPLC en las diferentes fracciones de fitoplancton se descartó. Para evaluar la evolución de la toxicidad en el Canal Beagle, se realizó el aná-

Tabla 4. Concentración de pigmentos (μg l^{-1}) en Bahía A. Brown y Paso R. Guaraní.
Table 4. Pigment concentration (μg l^{-1}) in A. Brown Bay and R. Guaraní Strait.

Pigmento	Estación 6 Bahía A. Brown 10 de diciembre	Estación 14 Paso R. Guaraní 10 de diciembre	Estación 22 Bahía A. Brown 17 de diciembre	Estación 25 Paso R. Guaraní 17 de diciembre
Clorofila c_3	0,012		0,024	0,010
Clorofilida	0,025	0,072	0,119	0,073
MGDVP	0,034	0,019	0,034	0,012
Clorofila c_2	0,254	0,207	0,711	0,290
Clorofila c_1	0,078	0,262	0,310	0,122
Peridinina			0,072	
Fucoxantina	0,765	0,677	2,110	0,890
Hex-fuco		0,182		
Diadinoxantina	0,091	0,156	0,260	0,151
Alloxantina	0,035	0,024	0,022	0,011
Diatoxantina			0,033	0,026
Zeaxantina		0,014		
Clorofila *b*	0,048	0,128	0,030	
Clorofila *a*	2,062	1,857	5,298	2,042
ββ-caroteno	0,027	0,047	0,065	0,032

Poder Legislativo FOLIO Nº 21 Secretaría Legislativa

lisis de la presencia de TPM y TAM en una serie de muestras de cholgas y mejillones colectadas en meses previos y analizadas por bioensayo en el Laboratorio Ambiental de la Secretaria de Ambiente, Desarrollo Sostenible y Cambio Climático de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur. Se analizaron un total de 21 muestras para la detección de TPM, de las cuales siete dieron resultados negativos por bioensayo. No obstante, en todas fue posible detectar toxinas en diferente concentración utilizando el método de HPLC de mayor sensibilidad. Se realizaron los cálculos de toxicidad a partir de las concentraciones de cada una de las toxinas halladas en las muestras y los factores individuales determinados por Oshima (1995). El coeficiente de correlación entre los resultados calculados por estas dos formas de análisis (expresados como µg de STX eq. kg^{-1} de tejido de moluscos) fue bajo (r = 0,466), lo que demuestra la diferencia de sensibilidad entre ambos métodos a bajas concentraciones de toxinas (Figura 9).

En los resultados de los análisis por HPLC se observó en general que para la misma fecha en muestras provenientes de la balsa ubicada en la entrada de la Bahía A. Brown (Figura 10), las cholgas presentan una mayor concentración de TPM que los mejillones.

La toxicidad y la cantidad de toxinas totales en las muestras de cholgas como de mejillones descendieron durante el período analizado. Sin embargo fue posible observar un aumento de toxicidad y concentración total de toxinas tanto en mejillones como en cholgas en las muestras colectadas en la misma balsa el 2 de septiembre y el 2 de diciembre de 2013. La muestra de cholgas correspondiente al 2 de septiembre alcanzó la máxima concentración de toxinas totales halladas (2.018 µg STX eq. kg^{-1}) (Figura 10).

El perfil tóxico de las muestras, tanto de mejillones como de cholgas, fue variable y detectó gonyautoxinas GTX1, GTX2, GTX3 y GTX4 como las principales toxinas presentes (Figura 11). Dada la rápida epimerización que ocurre en este grupo de toxinas, se expresaron los porcentajes agrupándolos en pares epiméricos (GTX2/3 y GTX1/4). Otras toxinas detectadas fueron las muy tóxicas neoSTX y STX. Estas últimas solo estaban presentes en las muestras de mejillones colectadas el 2 y 17 de diciembre en la balsa, lo

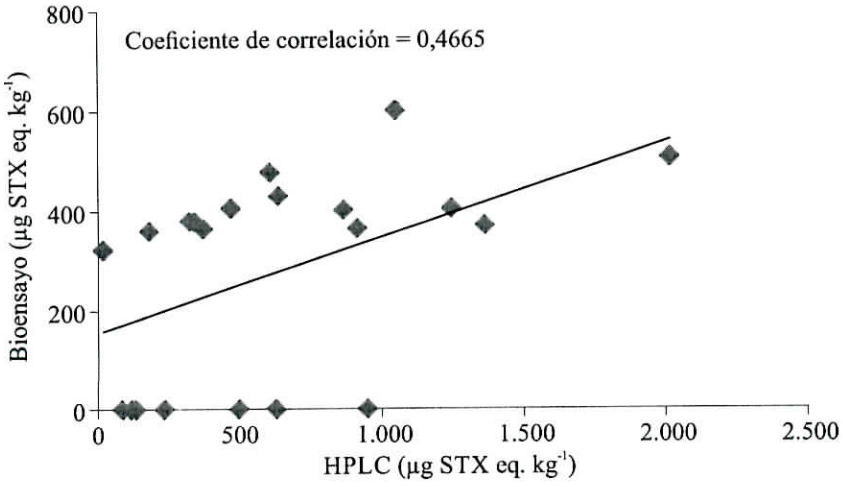


Figura 9. Correlación entre los resultados de los análisis de toxicidad (toxina paralizante de moluscos) obtenidos mediante bioensayo y HPLC.

Figure 9. Correlation among the results of the toxicity analyses (paralyzing shellfish toxin) obtained through bioassay and HPLC.

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 22
Secretaría Legislativa

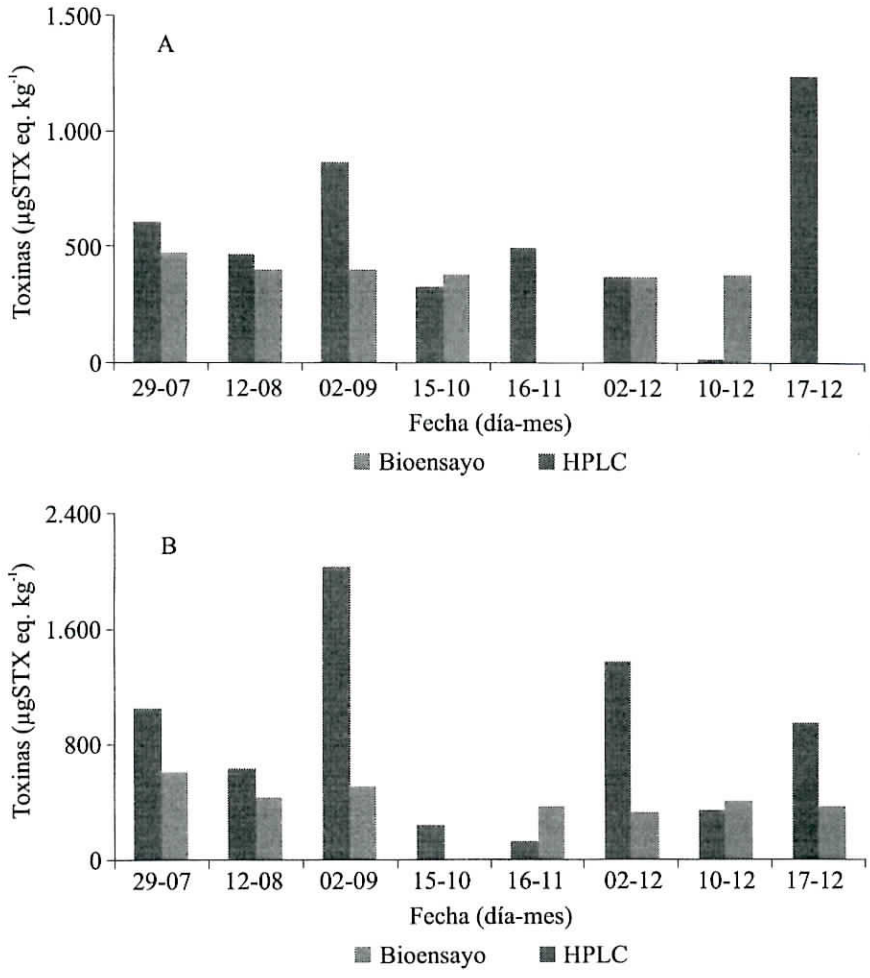


Figura 10. Toxinas paralizantes de moluscos expresadas como toxicidad determinadas mediante bioensayo y HPLC en mejillones (A) y cholgas (B) en la entrada de Bahía A. Brown (estación 6) obtenidas desde el 29 de julio al 16 de diciembre de 2013.

Figure 10. Paralyzing shellfish toxins expressed as toxicity determined through bioassay and HPLC in mussels (A) and cholgas (B) at the entrance of A. Brown Bay (station 6) collected from July 29th through December 16th 2013.

que podría indicar una incorporación más reciente de las toxinas, pues en el inicio del evento tóxico los mejillones mantienen el perfil del dinoflagelado productor, pero luego los procesos de transformación metabólica o enzimática causan la variación del perfil tóxico (Oshima 1995).

Aunque se registraron densidades significativas de las diatomeas *Pseudo-nitzschia* spp., las muestras de cholgas y de mejillones no presentaron toxina amnésica de moluscos.

Análisis de pigmentos, MAAs y toxinas en las especies tóxicas aisladas

Dos especies de dinoflagelados tóxicos, *A. ostenfeldii* y *A.* cf. *tamarense* aisladas previamente del sector de estudio dentro del Canal Beagle, fueron mantenidas en cultivo con el objetivo de estudiar sus características específicas y comparar la producción de MAAs, su perfil pigmentario y su composición de toxinas.

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 23
Secretaría Legislativa

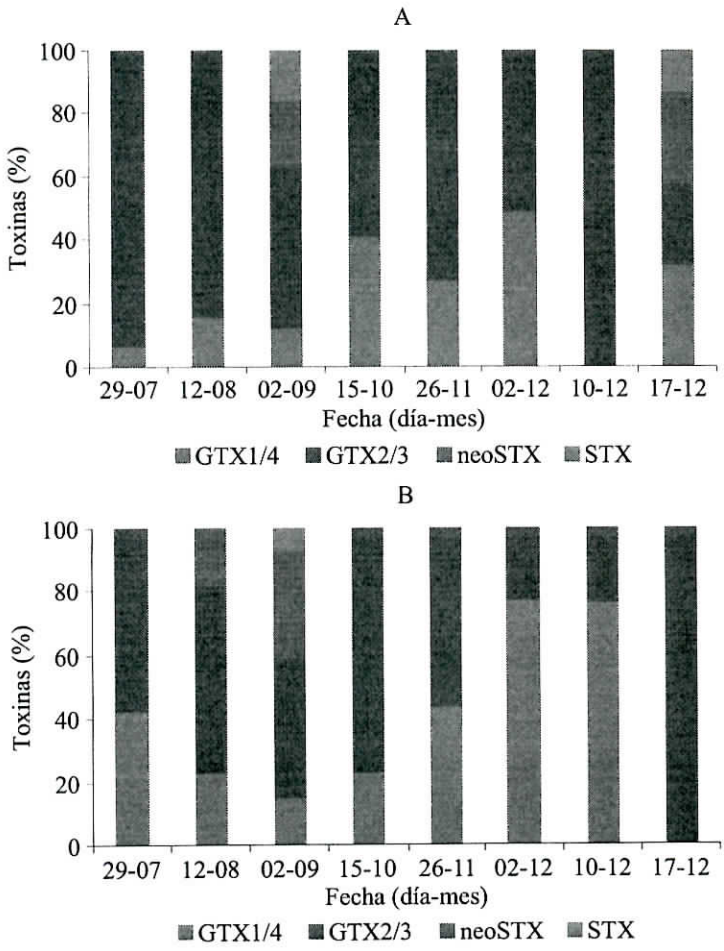


Figura 11. Toxinas detectadas en mejillones (A) y cholgas (B) en la entrada de Bahía Brown (estación 6) reunidas desde el 29 de julio al 16 de diciembre de 2013. GTX14 es la suma de los epímeros GTX1 y GTX4; GTX23 es la suma de los epímeros GTX2 y GTX3 (modificado de Montoya 2018).

Figure 11. Toxins detected in mussels (A) and cholgas (B) at the entrance of A. Brown Bay (station 6) collected from July 29th through December 16th 2013. GTX14 is the sum of the GTX1 and GTX4 epimers; GTX23 is the sum of the GTX2 and GTX3 epimers (modified from Montoya 2018).

La concentración de clorofila *a* en *A. ostenfeldii* fue 15 pg cél.$^{-1}$, mientras que la de *A.* cf. *tamarense* fue tres veces mayor (46,4 pg cél.$^{-1}$). *A. ostenfeldii* presentó la menor concentración de pigmentos totales por célula (32,26 pg cél.$^{-1}$), siendo para *A.* cf. *tamarense* 87,82 pg cél.$^{-1}$. El perfil de pigmentos hallado en los dos cultivos fue similar y corresponde al característico de dinoflagelados, con peridinina como carotenoide principal seguido por clorofila c_2, y el grupo de carotenoides diadinoxantina, diatoxantina, dinoxantina, β caroteno y peridididinol (Figura 12).

Se encontraron diferencias importantes en la cantidad y el tipo de toxinas halladas en las dos especies de dinoflagelados aislados. *A ostenfeldii* produce principalmente toxinas del tipo espirólido (Almandoz et al. 2014) y solo se detectaron trazas de toxinas del grupo de TPM. El contenido total de TPM en *A. ostenfeldii* fue de 0,27 fmol cél.$^{-1}$, mientras que en *A.* cf. *tamarense* fue de 18,8 fmol

Poder Legislativo FOLIO Nº 24 Secretaría Legislativa

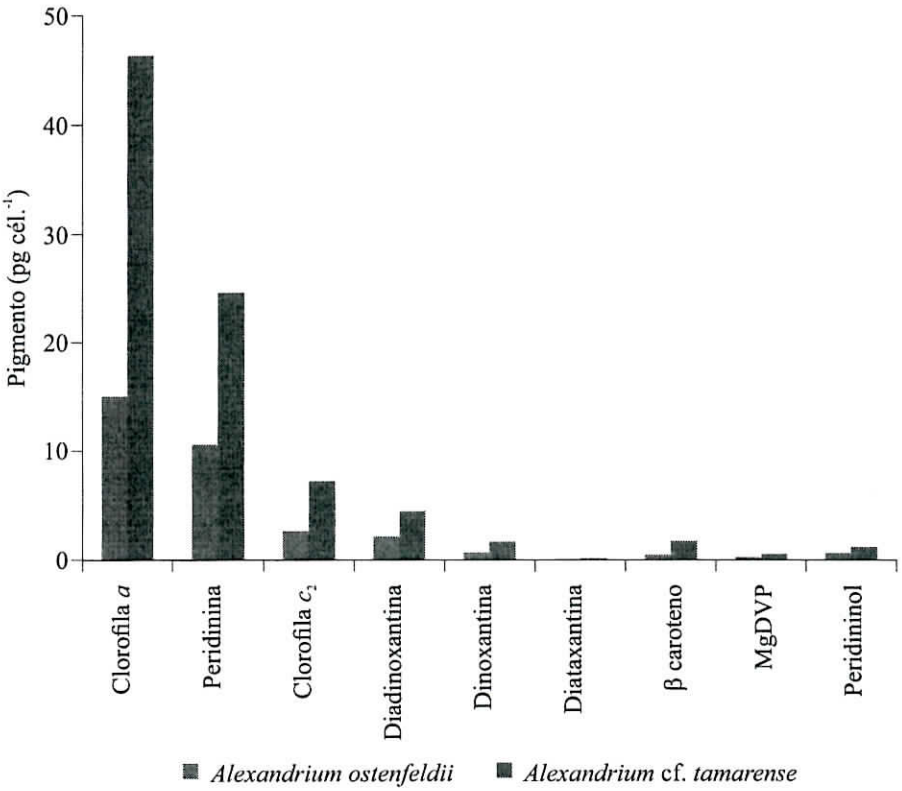


Figura 12. Concentración de pigmentos en los cultivos de *Alexandrium* cf. *tamarense* y *A. ostenfeldii* aislados del Canal Beagle.
Figure 12. Pigments concentration in Alexandrium *cf.* tamarense *and* A. ostenfeldii *cultures isolated from the Beagle Channel.*

cél.$^{-1}$ (70 veces más). En cuanto al perfil de toxinas en *A. ostenfeldii* solo se detectaron bajas concentraciones de GTX2/3, mientras que el perfil de *A.* cf. *tamarense* fue más complejo y similar al detectado para cultivos de *A. tamarense* aislados de Península Valdés (Montoya et al. 2010), con máximas concentraciones de GTX4 y C2 seguido de C1, GTX3 y GTX2 (Tabla 5). La toxicidad expresada como pg STX eq. cél.$^{-1}$ fue de 11,83 para *A.* cf. *tamarense* y de 0,66 para *A. ostenfeldii.*

La concentración de MAAs totales en *A. ostenfeldii* alcanzó 4,97 fg cél.$^{-1}$, siendo su composición en MAAs individuales relativamente menos compleja que la de otras especies de *Alexandrium* (Carreto et al. 2001). Se identificaron y cuantificaron 6 MAAs, siendo las más abundantes shinorine y palythene (1,66 y 2,06 fg cél.$^{-1}$, respectivamente). Las 4 MAAs restantes (palythine, shinorine methyl ester, porphyra-334 y mycosporine glycine presentaron valores de concentración semejantes, comprendidos en el rango de 0,20 a 0,43 fg cél.$^{-1}$ (Figura 13).

La composición en MAAs individuales de *A.* cf. *tamarense* fue muy similar a la registrada para otras especies de *Alexandrium* estudiadas previamente (Carreto et al. 2001), identificándose hasta 10 diferentes MAAs: shinorine, palythine, porphyra-334, mycosporine-glycine, acido z-palythenico, shinorine methyl ester, usujirene, palythene y los MAAs complejos M320 y M335/360 (Figura 13). Shinorine y palythene aparecen también como los más abundantes (5,20 y 6,92 fg cél.$^{-1}$, respectivamente). También su concentración total de MAAs (31,7 fg cél.$^{-1}$) fue notablemente superior (~ 6 veces) a la determinada para *A. ostenfeldii.*

Poder Legislativo FOLIO Nº 25 Secretaría Legislativa

Tabla 5. Concentración celular de toxinas (fmol cél.$^{-1}$) paralizantes de moluscos en cultivos de *Alexandrium* cf. *tamarense* y *A. ostenfeldii*.

Table 5. Cell concentrations of paralytic shellfish toxins (fmol cel.$^{-1}$) *in cultures of* Alexandrium *cf.* tamarense *and* A. ostenfeldii.

Toxinas	*Alexandrium* cf. *tamarense*	*Alexandrium ostenfeldii*
GTX4	9,85	
GTX1	0,00	
GTX3	0,25	0,09
GTX2	0,04	0,18
NeoSTX	1,25	
C1	0,89	
C2	6,50	
Total	18,78	0,27

DISCUSIÓN

La explotación de mejillón (*M. chilensis*) en el área del Canal Beagle tiene un alto potencial de desarrollo debido a las óptimas condiciones agroecológicas que favorecen su comercialización (amplia disponibilidad del recurso y excelente calidad y tamaño de los mejillones) (Bertolotti et al. 2014). No obstante, la frecuencia de los eventos de toxicidad por microalgas nocivas, la diversidad de especies tóxicas que se presentan y las lentas velocidades de detoxificación de los moluscos en la región, son factores de riesgo importantes que deben ser evaluados para asegurar el apropiado manejo de esta pesquería.

Conocer las condiciones físicas del ambiente, tales como la turbulencia y la advección por mareas o por circulación de las masas de agua es esencial para la comprensión de la distribución vertical de los organismos, la formación de floraciones de microalgas nocivas y los patrones de toxicidad regionales. Tanto la dinámica de las poblaciones como la producción de toxinas pueden ser moduladas en varias formas por los parámetros ambientales como temperatura, salinidad y disponibilidad de nutrientes (Reid 1997; Smayda y Reynolds 2001; Smayda 2002), por lo que es necesario conocer su distribución dentro de la bahía para evaluar las formas más apropiadas de manejo en los sistemas de cultivo de mejillón y reducir los riesgos sanitarios asociados a la ocurrencia de eventos tóxicos.

En el sector argentino del canal, la mayor parte de la producción del recurso proviene de la Bahía A. Brown, situada en la zona este del canal. La Bahía A. Brown tiene una superficie total de 7,37 km^2 y una profundidad media de 11 m (Quiros et al. 1993). Presenta una entrada amplia (desde Bal. Dirección hasta Punta Gable), que conduce a una más cerrada de 1,65 km de ancho (entre Punta Almanza y Morro Gibraltar), donde la profundidad supera los 20 m. Su parte más ancha tiene 2,6 km y su longitud es de aproximadamente 8,6 km. La bahía no está internamente cerrada debido a que en su interior se comunica con las aguas del canal principal del Beagle al este de la Isla Gable mediante un brazo marítimo que contornea el borde norte de la isla, el Paso R.

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 26
Secretaría Legislativa

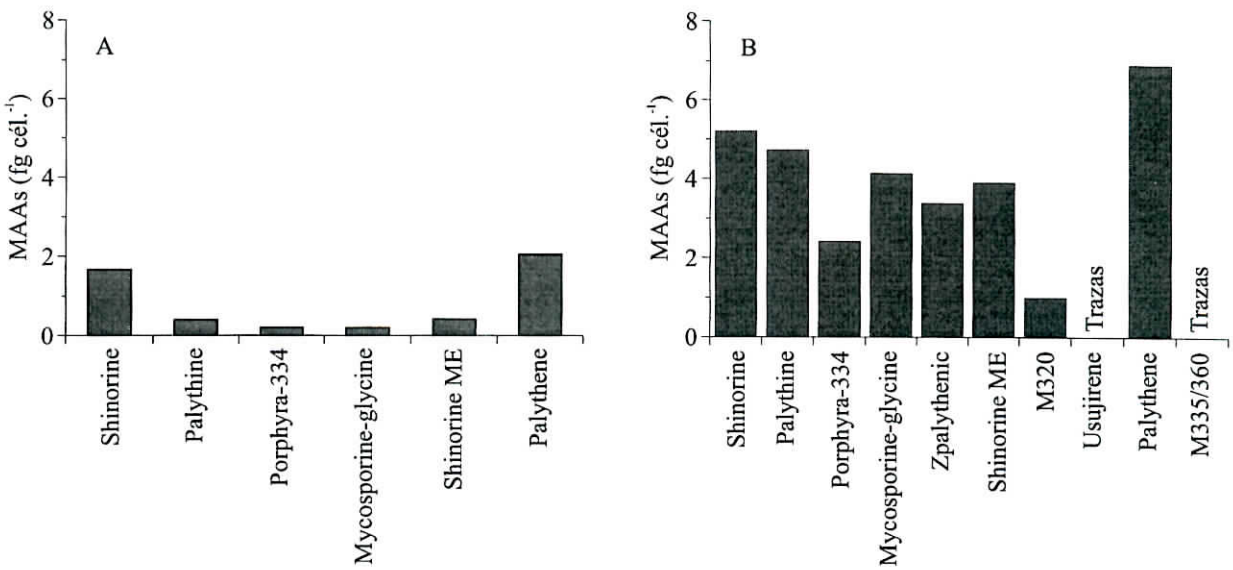


Figura 13. Concentración celular de MAAs individuales en cultivos de *Alexandrium ostenfeldii* y *A.*cf. *tamarense*.
Figure 13. Cell concentration of individual MAAs in Alexandrium ostenfeldii *and* A. *cf.* tamarense *cultures.*

Guaraní. Las mareas son del tipo "semidiurno", con marcada diferencia de amplitud entre las dos ondas sucesivas y una amplitud media de 1,20 m (Balestrini et al. 1998).

La circulación de las corrientes hidrográficas dentro de la Bahía A. Brown tiene características particulares debido a su condición de bahía "semicerrada". Sus aguas permanecen dentro durante el descenso de la marea y se renuevan durante su ascenso de Oeste hacia el Este, ingresando desde la zona de Punta Paraná y orientándose a través del paso Piedra Buena para luego pasar por el Paso R. Guaraní (Balestrini et al. 1998; Amin 1999). Amin (1999) registró el movimiento de agua dentro de la bahía mediante boyas de deriva y observó que la corriente no es suficiente para que las boyas liberadas en la zona central se dirijan hacia el final de la bahía (A. Brown), por lo que infiere que el recambio de agua se produce por diferencia de mareas más que por corrientes netas en la zona interior.

La distribución de los parámetros ambientales registrados en este estudio permitió diferenciar cuatro zonas dentro del área, con diferentes características hidrobiológicas determinadas principalmente por la circulación, los aportes de agua dulce y la profundidad (Figura 14):

1) La zona aledaña a la costa norte, desde la entrada hasta el sector central de la bahía, caracterizada por una micro-capa superficial de agua muy diluida por el aporte local proveniente del Río Almanza, que además determinó mayor aporte de nutrientes inorgánicos. Esta estructura vertical de dos capas es característica de los fiordos durante los meses de verano o primavera-otoño como consecuencia del deshielo (Isla et al. 1999), y se observó también en algunas bahías y accidentes costeros de otros sectores del canal donde el proceso de mezcla es restringido (Balestrini et al. 1998), y en algunos canales chilenos (Vera et al. 1996). La descarga de agua dulce continental en estas áreas costeras contribuye directamente la formación de una capa de mezcla superficial que tiene un pronunciado efecto sobre diferentes organismos planctónicos. La brusca disminución superficial de la salinidad

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 27
Secretaría Legislativa

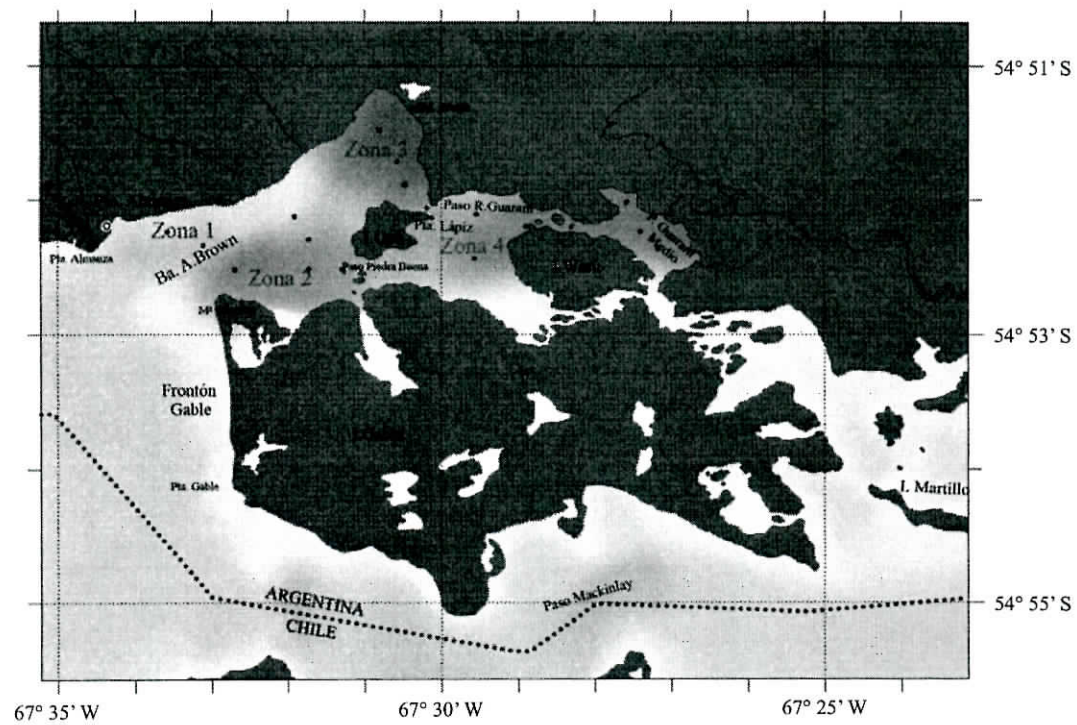


Figura 14. Distribución de las zonas hidrobiológicas diferenciadas en el área de Bahía A. Brown.
Figure 14. Distribution of the hydrobiological zones differentiated in the A. Brown Bay area.

produce una marcada estratificación salina que disminuye la turbulencia, que es un factor crítico para el florecimiento de los flagelados (Margalef 1978). La estabilidad de la columna de agua inducida por la estratificación salina es una de las condiciones que favorecen el crecimiento de dinoflagelados del Género *Dinophysis*, como fue observado por Peperzak et al. (1996) para los florecimientos de *D. acuminata* en el Mar del Norte. Los florecimientos de esta especie en la región de Antifer, Francia, fueron también relacionados con la marcada disminución de salinidad y aumento de nitratos causada por el desplazamiento superficial de aguas estuariales del Sena (Lassus et al. 1993). En los fiordos del sur de Chile, el crecimiento y acumulación del fitoplancton fueron asociados a un aumento de la estabilidad vertical y estratificación superficial de la columna de agua debido a la fusión de los campos de hielos continentales (Pizarro et al. 2000; Avaria 2008).

2) La zona aledaña a la costa de Isla Gable, desde la entrada hasta el sector central de la bahía, con una casi completa homogeneidad vertical de los parámetros físicos y salinidades mayores de 30,6 en toda la columna de agua. La mayor salinidad y la ausencia de estructura vertical indican que la zona está más relacionada al flujo central del canal (Isla et al. 1999), que tiene mayor incidencia sobre este sector de la bahía debido a la barrera geográfica ofrecida por la Isla Gable.
3) La zona interior de la bahía, donde la circulación restringida permitió el desarrollo parcial de una estructura vertical en la distribución de los parámetros físicos. El desplazamiento restringido de agua registrado en el interior de la bahía determina las características hidrobiológicas particulares de este sector, que puede ser

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 28
Secretaría Legislativa

considerado como un área de retención donde la baja velocidad y el intercambio reducido favorecen la sedimentación de partículas de menor granulometría y el desarrollo incipiente de una estructura vertical en la distribución de los parámetros físicos. Estudios previos sobre la composición granulométrica de los sedimentos en el sector interior de la bahía mostraron una alta proporción (30-40%) de limo-arcillas. A diferencia de los sedimentos del sector central y sector costero, presentó una composición mayoritaria de arenas (Amin 1999). Las áreas con circulación restringida, donde prevalece la sedimentación sobre el transporte, pueden funcionar como trampas de sedimentos y por lo tanto reservorios potenciales de estadíos bentónicos de algunos dinoflagelados. Las hipnocigotas de resistencia producidas por muchas especies de dinoflagelados tienden a concentrarse en sedimentos finos más que en los gruesos arenosos debido a que tienen un comportamiento hidrodinámico similar al de las partículas de limo (Dale 1976; Angles et al. 2010), dando lugar a la formación de "bancos" de quistes. La presencia de estos bancos tiene una considerable significación biológica debido a que la germinación de los quistes proporciona un inóculo inicial para la formación de florecimientos de dinoflagelados o la producción de eventos locales de toxicidad (Anderson y Wall 1978; Anderson 1984), por lo cual, el monitoreo de las poblaciones bentónicas de quistes de dinoflagelados y la localización de las áreas que actúan como reservorios de estos quistes proporcionan una información importante que puede proveer una alerta temprana sobre la presencia y abundancia de especies tóxicas en éstas áreas.

4) La zona del Paso R. Guaraní, donde la escasa profundidad favoreció el incremento de la temperatura y la penetración de la radiación solar hasta el fondo. La gran disponibilidad de luz sobre el fondo en este sector proporciona condiciones favorables para el crecimiento de especies bentónicas de fitoplancton como *Prorocentrum lima*. Esta especie, productora de toxinas lipofílicas, tiene un hábito principalmente bentónico o epifítico (Faust 1991); y fue observada en las muestras de fitoplancton tomadas en el lugar, aunque en baja abundancia.

El predominio de dinoflagelados comúnmente registrado a principios de diciembre en el área del Canal Beagle está caracterizado por la presencia de especies productoras de toxina paralizante de moluscos (TPM) como *A. catenella* y *A. tamarense* (Benavides et al. 1995; Guzmán et al. 2002; Almandoz et al. 2011), lo cual se evidencia en los niveles de toxicidad de moluscos bivalvos registrados en los monitoreos de toxinas realizados rutinariamente en el área (Goya y Maldonado 2014). La inusual ausencia de toxicidad registrada en diciembre de 2013 fue coincidente con una escasa presencia de dinoflagelados observada en el plancton y la ausencia de las especies de *Alexandrium* mencionadas, las cuales normalmente causan el incremento de toxicidad en esta época del año en la Bahía A. Brown. La ausencia de estas especies de dinoflagelados y la dominancia del Género *Chaetoceros* en el plancton mostraron que la comunidad de fitoplancton se hallaba en una etapa temprana de desarrollo, indicando un retraso en la típica secuencia sucesional descripta por Margalef (1978), que comienza a principios de primavera con el florecimiento de diatomeas pequeñas formadoras de cadenas y de rápido crecimiento, como la mayoría de las especies del género *Chaetoceros*, seguida por el crecimiento de diatomeas de mayor tamaño. Florecimientos de *Chaetoceros* han sido registrados previamente en otros sectores del Canal Beagle durante la primavera temprana (Avaria et al. 2003; Pizarro et al. 2005). Almandoz et al. (2011) estudiaron la variación estacional de la composición del fitoplancton en área de Bahía A. Brown durante un ciclo anual y observaron que el incremento en la biomasa y densidad celular registrado a principios de pri-

Poder Legislativo FOLIO Nº 29 Secretaría Legislativa

mavera está asociado al florecimiento de varias especies de diatomeas del Género *Chaetoceros*, entre las que presentan mayor abundancia *C. socialis*, *C. tortissimus*, *C. debilis* y *C. decipiens*. Igualmente, la única especie de *Alexandrium* observada en las muestras tomadas en este período (*A. ostenfeldii*) es normalmente observada en el plancton durante el mes de octubre, en coincidencia con el inicio del florecimiento primaveral de las diatomeas, causando un pico menor de toxicidad en los moluscos bivalvos del área en ese período (Hernando com. pers.)[1].

De acuerdo con el estudio realizado por Almandoz et al. (2011), el florecimiento de *Chaetoceros* es seguido por un pico menor de abundancia representado por el Género *Thalassiosira*, después del cual la biomasa de diatomeas decrece, incrementándose la abundancia de los dinoflagelados sobre el final de la primavera. La composición específica del fitoplancton durante diciembre de 2013 estuvo dominada en por diatomeas del Género *Chaetoceros*. Esta composición, y la ausencia de toxicidad en este período, sugieren que la comunidad fitoplanctónica se hallaba en una etapa temprana de la secuencia sucesional clásica.

Las diferencias observadas con estudios previos en la composición específica de fitoplancton en el área estudiada pueden estar relacionadas a la baja temperatura y velocidad del viento registradas por la estación meteorológica del aeropuerto de la ciudad de Ushuaia durante los meses de primavera previos. Coincidentemente, en el Boletín Climatológico estacional publicado por el Servicio Meteorológico Nacional, se registraron anomalías térmicas negativas a partir de la primavera de 2013 hasta enero de 2014, principalmente en el centro y sur de la Patagonia (SMN, 2013), siendo el verano 2013/2014 el más frio de las últimas cinco décadas. Otra anomalía registrada por el SMN durante la primavera de 2013 fue que las frecuencias de días con cielo cubierto fueron marcadamente positivas en la región. Estas anomalías atmosféricas podrían haber sido uno de los factores que causó el retraso en el desarrollo de la secuencia sucesional usual del fitoplancton en la región, alterando la composición específica esperada para este período del año, lo cual pone de manifiesto la necesidad de realizar un monitoreo frecuente de los parámetros atmosféricas regionales para favorecer la interpretación de la variabilidad observada en las comunidades de fitoplancton.

Las fracciones de nano y picoplancton son importantes componentes del fitoplancton en los océanos y carecen en algunos casos de caracteres morfológicos definitorios, por lo que su estudio requiere técnicas especiales. Estos organismos, presentan un perfil complejo de pigmentos fotosintéticos (clorofilas, carotenoides y ficobilinas) distribuidos selectivamente en diferentes taxones (Jeffrey et al. 1997). La presencia de pigmentos marcadores propios de diferentes taxones, generalmente a nivel de clase y excepcionalmente al nivel de género y especie, es una ayuda importante para caracterizar la composición de la comunidad de fitoplancton en muestras naturales. En las muestras analizadas, se identificaron componentes del nano y picoplancton según su perfil pigmentario, observándose una muy buena correlación entre los pigmentos determinados y los grupos fitoplanctónicos observados en microscopio, siendo el primer estudio de este tipo que se realiza en Bahía A. Brown.

Los niveles de clorofila determinados corresponden a una etapa inicial del crecimiento fitoplanctónico primaveral. La presencia de altas concentraciones de fucoxantina, la baja diversidad pigmentaria y el incremento en el nivel de clorofila *a* del 10 al 17 de diciembre, se corresponden con el crecimiento de diatomeas observado y es coincidente con la disminución de nutrientes registrada entre ambos muestreos.

[1]Marcelo Hernando, Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica, Av. Gral. Paz 1499, B1650KNA - Buenos Aires, Argentina.

Poder Legislativo
FOLIO
Nº30
Secretaría Legislativa

Perfil de toxinas y toxicidad

En la región se han registrado varias especies de diatomeas del Género *Pseudo-nitzschia* (*P. australis*, *P. calliantha*, *P. fraudulenta* y *P.* cf. *seriata*) potenciales productoras de ácido domoico (TAM) (Almandoz et al. 2011). Sin embargo, en el canal solo se ha detectado AD en una campaña realizada en abril de 2012 en la que no se identificó la especie productora (Krock et al. 2015). La ausencia de AD en las muestras estudiadas puede deberse a diversos factores. El primer factor a considerar es una baja concentración de células o bajo nivel de toxinas por célula y por lo tanto un nivel de toxinas no detectable. Otro punto a tener en cuenta es que la producción de toxinas por el Género *Pseudo-nitzschia* depende de múltiples factores tanto externos (nutrientes, luz, hierro, cobre, etc.) como internos (fase de crecimiento, endobacterias, etc.) (Lelong et al. 2012). La presencia de una especie potencialmente tóxica en el plancton no es sinónimo de toxicidad, pero es un alerta, y por lo tanto es necesario realizar los estudios correspondientes para verificar su capacidad como productor de toxinas y monitorear los posibles organismos afectados.

El análisis oficial de Toxinas Paralizantes de Moluscos en la Argentina se realiza por el método tradicional de bioensayo con ratones (SAGPYA 2006). Sin embargo, por razones éticas en diversas legislaciones, como en la Comunidad Europea, no se considera éste un método adecuado. El uso potencial de técnicas analíticas para reemplazar bioensayos con ratón está siendo discutido, para lo cual los métodos que utilizan HPLC resultan los más adecuados. El método analítico permite conocer y cuantificar cada una de las toxinas que forman el grupo de TPM, y por lo tanto es el ideal para estudiar los fenómenos de transferencia y metabolización en los diferentes organismos afectados. Sin embargo, presenta algunas desventajas en los programas de monitoreo cuando es necesario controlar en forma rápida una gran cantidad de muestras (Etheridge 2010). Frente a la rápida y segura respuesta que brinda el bioensayo, el método oficial de análisis por HPLC propuesto por la Comunidad Europea tiene el inconveniente de la interpretación de los resultados, la necesidad de contar con todos los estándares y el tiempo insumido en la extracción, purificación y análisis de las muestras (EFSA 2009). Frente a este problema, una solución que se está evaluando es la utilización de kits rápidos para el análisis rutinario en los programas de monitoreo (Etheridge 2010).

El análisis de toxinas por HPLC en muestras de bivalvos del mismo período mostró la presencia de TPM en muy bajas concentraciones, por lo que es de suponer que en el período estudiado no hubo eventos extraordinarios de especies toxicas de fitoplancton. Con el objetivo de estudiar la evolución temporal de la toxicidad, se analizaron muestras de mejillones y cholgas correspondientes a un período anterior. En el análisis de las muestras colectadas en el período julio a diciembre de 2013, si bien algunas muestras fueron negativas por bioensayo, en todas fue posible detectar TPM en diferente concentración utilizando el método más sensible de HPLC. El bajo coeficiente de correlación observado entre los métodos puede deberse al error típico del bioensayo (20-30%), a que la sensibilidad del análisis por HPLC es superior, o a la presencia de sustancias que son toxicas para los ratones y no son detectadas por el método de HPLC (Costa et al. 2009). La baja presencia de especies tóxicas en el plancton y la detoxificación de los moluscos observada en el período abarcado por este estudio, sugieren que las toxinas fueron adquiridas en un evento tóxico previo ocurrido en el verano de 2012-2013 (Eriksson com. pers.)[2]. Sin embargo, tanto en mejillones como en cholgas, se observó un incremento del contenido total

[2]Nahuel Eriksson, Secretaria de Ambiente, Desarrollo Sostenible y Cambio Climático de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, San Martín 1401 - Ushuaia, Argentina.

Poder Legislativo FOLIO Nº 31 Secretaría Legislativa

de toxinas en las muestras tomadas el 2 de septiembre y 17 de diciembre. Si bien no se observa un incremento de las especies productoras de TPM en la comunidad fitoplanctónica, otros factores pueden haber causado esta variación, como la re-suspensión de las hipnocigotas de dinoflagelados tóxicos. Se ha atribuido a las hipnocigotas la presencia de toxicidad en algunos filtradores (almeja y culengue) de la Región de Aysén, reportada durante el invierno, en ausencia de la fase móvil (Lembeye 1998). Otro factor posible en la variación del perfil de toxinas en las muestras de bivalvos es la diferente composición de toxinas en los dinoflagelados *A. catenella y A. ostenfeldii*, cuya sucesión en el plancton podría reflejarse como un cambio en el perfil tóxico en las primeras etapas de intoxicación de los mejillones. Además, los cambios fisiológicos de estadio y madurez sexual de los bivalvos pueden modificar el contenido de humedad y grasas total de la muestra, con el consecuente cambio en la cantidad relativa de toxinas expresadas en peso húmedo (Bricelj y Shumway 1998). En la región de Canal Beagle, el tiempo de detoxificación de los mejillones puede ser mayor como consecuencia de la baja temperatura del agua, lo que ocasiona una baja velocidad de metabolización de las toxinas adquiridas. Por ejemplo, Álvarez (2012) observa un evento de TPM ocurrido en octubre de 2009 en Canal Beagle que impuso una veda que se extendió por todo un año. Otro factor importante en la velocidad de detoxificación es la concentración inicial de toxinas que suele ser elevada en los eventos registrados en el Canal Beagle (Goya y Maldonado 2014). Por otra parte, la diferencia de toxicidad entre mejillones y cholgas obtenidas en cultivo o en bancos naturales se ha observado en otros estudios y puede ser debida a diferencias en la metabolización enzimática de las toxinas (Bricelj y Shumway 1998).

El cultivo de *A. ostenfeldii* y *A.* cf. *tamarense* permitió realizar estudios controlados para profundizar el conocimiento de algunas de las características ecofisiológicas específicas como la producción de MAAs, el perfil pigmentario y la composición de toxinas. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que *A. ostenfeldii*, aislado del Canal y creciendo en condiciones óptimas de cultivo, solo produce muy baja cantidades de GTX2/3. Por otra parte, se ha observado que *A. tamarense*, aislado de la plataforma bonaerense, presenta mayor toxicidad creciendo en medio natural que en cultivo debido a las diferencias en el perfil toxico que presenta el dinoflagelado creciendo en condiciones diferentes (Montoya et al. 2010). Es por lo tanto importante estudiar la producción de toxinas de *A. ostenfeldii* en medio natural con el fin de comparar las características ecofisiológicas. El cultivo de *A.* cf. *tamarense* aislado en un estudio previo en el Canal Beagle presenta un perfil de toxinas similar al de *A. tamarense* aislado de la plataforma bonaerense (Montoya et al. 2010). Igualmente, el resultado del análisis de pigmentos de los cultivos aquí estudiados fue coincidente con el esperado para dinoflagelados de este género (Jeffrey et al. 1997), presentando peridinina como pigmento característico.

Los efectos nocivos que inducen la radiación UV en organismos acuáticos pueden ser aminorados a través de varios mecanismos de fotoprotección entre los que se encuentran, además, la activación de sistemas antioxidantes, la acumulación de sustancias que absorben radiación UV (fotoprotectores). Entre los fotoprotectores se encuentran los aminoácidos tipo micosporina (MAAs). Los dinoflagelados han desarrollado la habilidad de sintetizar este tipo de compuestos, lo que sumado a su capacidad de migración vertical en la columna de agua le confiere una decisiva ventaja adaptativa. En *A. ostenfeldii* la composición en MAAs individuales fue relativamente menos compleja que la de otras especies de *Alexandrium*, mientras que en *A.* cf. *tamarense* fue muy similar a las estudiadas previamente (Carreto et al. 2001). Dado que la disminución de la capa de ozono en la región es máxima en primavera, sería conveniente realizar en un futuro estudios de fotoadaptación y presencia de aminoácidos simi-

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 32
Secretaría Legislativa

lares a micosporinas en estas especies en medio natural.

En 2016, las floraciones de *Pseudochattonella* causaron una mortalidad del 20% de la producción total de salmón chileno: en unos pocos días se sacrificaron unos 30 millones de peces (Clement et al. 2016). Estos eventos fueron seguidos por floraciones excepcionales de *A. catenella*, que devastaron la producción de mariscos y llevaron a una agitación social que afectó gran parte de la zona productiva. Estos fenómenos se asociaron claramente con anomalías climáticas y se vincularon a una de las señales más fuertes de El Niño en el Océano Pacífico Sudoriental en las últimas décadas (Muñoz et al. 2018). La experiencia obtenida en los últimos años sobre los eventos de toxicidad nos ha demostrado que se debe prestar especial atención al advenimiento de nuevas especies tóxicas y a la ocurrencia de nuevos síndromes tóxicos en la región. Así mismo, se advierte la necesidad de realizar un monitoreo microscópico de los sedimentos bentónicos en el sector interno de la Bahía A. Brown junto con el de las especies tóxicas presentes en el plancton, así como contar con un registro continuo de las variables meteorológicas para intentar desarrollar una capacidad predictiva de los florecimientos de algas nocivas en el canal.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de la Subsecretaría de Desarrollo Sustentable y Ambiente y la Dirección General de Desarrollo Pesquero y Acuícola del Gobierno de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur para la realización los muestreos. Al Sr. Nahuel Erikkson, director del Laboratorio Ambiental de la SADSyCC por facilitar las instalaciones para los análisis preliminares de las muestras. A la Sra. Belén Mattera por su colaboración en los análisis de pigmentos. Contribución INIDEP Nº 2191.

REFERENCIAS

ALMANDOZ GO, FABRO E, FERRARIO M, TILLMANN U, CEMBELLA A, KROCK B. 2017. Species occurrence of the potentially toxigenic diatom genus *Pseudo-nitzschia* and the associated neurotoxin domoic acid in the Argentine Sea. Harmful Algae. 63: 45-55.

ALMANDOZ GO, HERNANDO MP, FERREYRA GA, SCHLOSS IR, FERRARIO ME. 2011. Seasonal phytoplankton dynamics in extreme southern South America (Beagle Channel, Argentina). J Sea Res. 66 (2): 47-57.

ALMANDOZ GO, MONTOYA N, HERNANDO MP, BENAVIDES H, CARIGNAN M, FERRARIO ME. 2014. Toxic strains of the *Alexandrium ostenfeldii* complex in South America (Beagle Channel, Argentina). Harmful Algae. 37: 100-109.

ÁLVAREZ M. 2012. Situación actual de las zonas de producción de moluscos bivalvos en referencia a los fenómenos de Marea Roja. Años 2008 al 2011. 5to Taller de Trabajo de la Red de Fortalecimiento para la Maricultura Costera Patagónica y del Taller de Cultivo de Mejillón. <http://www. cenpat-conicet.gov.ar/mariculturaenred/PresentacionesTaller/Mareas rojas-FerinoAlvarez.pdf>.

AMIN OA. 1999. Estudio de las características oceanográficas de la Bahía Almirante Brown. Informe para la Subsecretaría de Recursos naturales y Ambiente Humano de la prov. de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, Argentina. 9 p.

ANDERSON DM. 1984. The roles of dormant cysts in toxic dinoflagellate blooms and shellfish toxicity. En: RAGELIS E, editor. Seafood toxins. American Chemical Society Symposium series. Washington: American Chemical Society. p. 125-138.

ANDERSON DM, WALL D. 1978. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamaren-*

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 33
Secretaría Legislativa

sis and G. excavata in initiating toxic dinoflagellate blooms. J Phycol. 14: 224-234.

ANGLES S, GARCES E, JORDI A, BASTERRETXEA G, PALANQUES A. 2010. *Alexandrium minutum* resting cyst distribution dynamics in a confined site. Deep-Sea Res (II Top Stud Oceanogr). 57 (3-4): 210-221.

[AOAC] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 1985. Paralytic shellfish poison. Biological method. Final action. Official Methods of Analysis. Sec. 959.08. p. 21-22.

AVARIA, S. 2008. Phytoplankton in the austral Chilean channels and fjords. Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn. En: SILVA N, PALMA S, editores. Valparaíso: Comité Oceanográfico Nacional-Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. p. 89-92.

AVARIA S, CACERES C, CASTILLO P, MUÑOZ P. 2003. Distribución del microfitoplancton marino en la zona del Estrecho de Magallanes-Cabo de Hornos, Chile, en la primavera de 1998 (crucero CIMAR 3 fiordos). Cienc Tecnol Mar. 26: 79-96.

BALESTRINI C, MANZELLA G, LOVRICH G. 1998. Simulación de corrientes en el Canal Beagle y Bahía Ushuaia mediante un modelo bidimensional. Servicio de Hidrografía Naval, República Argentina. Departamento Oceanografía. Informe Técnico N° 98, 58 p.

BENAVIDES H, PRADO L, DIAZ S, CARRETO JI. 1995. An exceptional bloom of *Alexandrium catenella* in the Beagle Channel, Argentina. En: LASSUS P, ARZUL G, ERARD E, GENTIEN P, MARCAILLOU C, editores. Harmful marine algal blooms. Proceedings of the Sixth International Conference on Toxic Marine Phytoplankton, October 1993, Nantes, France. p. 113-119.

BERTOLOTTI MI, PAGANI A, GUALDONI P, FOSATI J. 2014. Cadena de producción del cultivo del mejillón en el año 2011 en la provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, Argentina. Rev Galega Econo. 23: 33-50.

BRICELJ VM, SHUMWAY SE. 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence transfer kinetics and biotransformation. Rev Fish Sci. 6 (4): 315-383.

CARRETO JI, CARIGNAN MO, MONTOYA NG. 2001. Comparative studies on mycosporine-like amino acids, paralytic shellfishtoxins and pigment profiles of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense*, *A. catenella* and *A. minutum*. Mar Ecol Prog Ser. 223: 49-60.

CARRETO JI, CARIGNAN MO, MONTOYA NG. 2002. Short term effects of ultraviolet radiation on the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. Pigment bleaching and MAAs synthesis inhibition. In: Aquaculture, Environment and Marine Phytoplankton. G. Arzul Coord. Ed. IFREMER, Actes colloq. 34: 173-190.

CARRETO JI, CARIGNAN MO, MONTOYA NG. 2005. A high-resolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. Mar. Biol. 146: 237-252.

CEMBELLA AD, LEWIS NI, QUILLIAM MA. 2000. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. Phycologia. 39: 67-74.

CLÉMENT A, LINCOQUEO L, SALDIVIA M, BRITO CG, MUÑOZ F, FERNÁNDEZ C, PÉREZ F, MALUJE CP, CORREA N, MONCADA V, CONTRERAS G. 2016. Exceptional summer conditions and HABs of *Pseudochatonella* in Southern Chile create record impacts on salmon farms. Harmful Algae News. 53: 1-3.

COSTA PR, BAUGH KA, WRIGHT B, RALONDE R, NANCE SL, TATARENKOVA N, ETHERIDGE SM, LEFEBVRE KA. 2009. Comparative determination of paralytic shellfish toxins (PSTs) using five different toxin detection methods in shellfish species collected in the Aleutian Islands, Alaska. Toxicon. 54: 313-320.

DALE B. 1976. Cyst formation, sedimentation, and preservation: factors affecting dinoflagellate assemblages in recent sediments from Trond-

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 34
Secretaría Legislativa

heimsfjord, Norway. Rev Palaeobot Palynol. 22: 39-60.

[EFSA] EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. 2009. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on is quest from the European Commission on marine biotoxins in shellfish-summary on regulated marine biotoxins. EFSAJ. 1306: 1-23.

ETHERIDGE SM. 2010. Paralytic shellfish poisoning: Sea food safety and human health perspectives Toxicon. 56: 108-122.

FAUST MA. 1991. Morphology of ciguatera-causing *Prorocentrum lima* (Pyrrophyta) from widely differing sites. J Phycol. 27: 642-648.

FERRARIO ME, SAR EA, SALA S. 1995. Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. En: ALVEAL K, FERRARIO ME, OLIVEIRA EC, SAR EA, editores. Manual de métodos ficológicos. Concepción: Universidad de Concepción. p. 1-23.

FRITZ L, TRIEMER RE. 1985. A rapid simple technique utilizing Calcofluor White M28 for the visualization of dinoflagellate thecal plates. J Phycol. 21: 662-664.

GOYA AB, MALDONADO S. 2014. Evolution of PSP toxicity in shellfish from the Beagle Channel (Tierra del Fuego, Argentina): an overview. En: SAUVÉ G, editor. Molluscan shellfish safety. Dordrecht: Springer. p. 15-23.

GRASSHOFF K, EHRHARDT M, KREMLING K. 1983. Methods of sea water analysis. Weimnheim: Verlag Chemie. 419 p.

GUZMAN L, CAMPODÓNICO E. 1975. Marea Roja en la Región de Magallanes. Publicaciones Instituto de la Patagonia. Serie Monografías, Punta Arenas, Chile, 9. 44 p.

GUZMAN L, LEMBEYE G. 1975. Estudios sobre un florecimiento tóxico causado por *Gonyaulax catenella* en Magallanes. II— Algunas condiciones hidrográficas asociadas. ANS. INST. PAT., Punta Arenas (Chile). VI (1-2): 185-195.

GUZMAN L, PACHECO H, PIZARRO G, ALARCÓN C. 2002. *Alexandrium catenella* y veneno paralizante de los mariscos en Chile. En: SAR EA, FERRARIO ME, REGUERA B, editores. Floraciones algales nocivas en el cono sur americano. Vigo: Instituto Español de Oceanografía. p. 235-255.

ISLA F, BUJALESKY G, CORONATO A. 1999. Procesos estuarinos en el Canal Beagle, Tierra del Fuego. Rev Asoc Geol Argent. 64 (4): 307-318.

HYDES D, AOYAMA M, AMINOT A, BECKER S, COVERLY S, DANIEL A, DICKSON A, GROSSO O, KEROUEL R, VAN OOIJEN J, ET AL. 2010. Determination of dissolved nutrients in seawater. En: HOOD EM, SABINE CL, SLOYAN BM, editores. The GO-SHIP repeat hydrography manual: a collection of expert reports and guidelines. IOCCP Report No. 14, ICPO Publication Series No. 134. http://www.go-ship.org/HydroMan.html.

JEFFREY SW, WRIGHT SW. 1997. Qualitative and quantitative HPLC analysis of SCOR reference algal cultures. En: JEFFREY SW, MANTOURA RFC, WRIGHT SW, editores. Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods, Vol. 10. Paris: UNESCO Monographs on Oceanographic Methodology. p. 343-360.

KREMP A, LINDHOLM T, DRESSLER N, ERLER K, GERDTS G, EIRTOVAARA S, LESKINEN E. 2009. Bloom forming *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in shallow waters of the Åland Archipelago, Northern Baltic Sea. Harmful Algae. 8: 318-328.

KROCK B, BOREL M, BARRERA F, TILLMANN U, FABROD E, ALMANDOZ GO, FERRARIO M, GARZÓN CARDONA JE, KOCHA BP, ALONSO C, ET AL. 2015. Analysis of the hydrographic conditions and cyst beds in the San Jorge Gulf, Argentina, that favor dinoflagellate population development including toxigenic species and their toxins. J Mar Syst. 148: 86-100.

LASSUS P, PRONIEWSKI F, MAGGI P, TRUQUET P, BARDOUIL M. 1993. Wind-induced toxic blooms of *Dinophysis* cf. *acuminata* in the Antifer area (France). En: SMAYDA TJ,

Poder Legislativo FOLIO Nº 35 Secretaría Legislativa

SHIMIZU Y, editores. Toxic phytoplancton blooms in the sea. Elsevier Science Publishers. p. 519-523.

LELONG A, GARET H, SOUDANT P, BATES S. 2012. *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms. Phycologia. 51 (2): 168-216.

LEMBEYE G. 1998. Seguimiento de la toxicidad en recursos pesqueros de importancia comercial en la X y XI Región, Informe Final Proyecto FIP. 86 p.

MARGALEF R. 1978. Life forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. Ocenol Acta. 1: 493-509.

MONTOYA N, CARIGNAN M, BENAVIDES H. 2012. Toxinas emergentes: spirolidos en mejillones, fitoplancton y en cultivo de *Alexandrium ostenfeldii* del Canal de Beagle. Inf Invest INIDEP N° 116/2012.

MONTOYA NG, FULCO KV, CARIGNAN MO, CARRETO JI. 2010. Toxin variability in cultured and natural populations of *Alexandrium tamarense* from southern South America – Evidences of diversity and environmental regulation. Toxicon. 56: 1408-1418.

MUÑOZ JL, URBINA MA, GARREAUD R, IRIARTE JL. 2018. Hydroclimatic conditions trigger record harmful algal bloom in western Patagonia (Summer 2016). Scientific Reports (2018) 8:1330. doi:10.1038/s41598-018-19461-4

NAGAI S, NITSHITANI G, TOMARU Y, SAKIYAMA S, KAMIYAMA T. 2008. Predation by the toxic dinoflagellate *Dinophysis fortii* on the ciliate Myrionecta rubra and observation of sequestration of ciliate chloroplasts. J Phycol. 44 (4): 909-922.

OSHIMA Y. 1995. Post-column derivatisation liquid chromatography method for paralytic shellfish toxins. J AOAC Int. 78: 528-532.

PEPERZAK L, SNOEIJER GJ, DIJKEMA R, GIESKES WWC, JOORDENS J, PEETERS JCH, VRIELING EG, ZEVENBOOM W. 1996. Development of *Dinophysis acuminata* bloom in the river Rhine plume. En: YASUMOTO T, OSHIMA Y, FUKUYO Y, editores. Harmful and toxic algal blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. 273-276.

PIZARRO G, IRIARTE, JL, MONTECINO V, BLANCO JL, GUZMÁN L. 2000. Distribución de la biomasa fitoplanctónica y productividad primaria máxima de fiordos y canales australes (47°-50° S) en octubre 1996. Cienc Tecnol Mar. 23: 25-48.

PIZARRO G, MONTECINO V, GUZMAN L, MUÑOZ V, CHACON V, PACHECO H, FRANGOPULOS M, RETAMAL L, ALARCON C. 2005. Patrones anuales recurrentes del fitoplancton en fiordos y canales australes (43°-53° S) en primavera y verano. Cienc Tecnol Mar. 28 (2): 63-83.

QUIROS R, LUCHINI L, WICKI G, ERRAZTI E. 1993. Evaluación e identificación de sitios aptos para el desarrollo de la acuicultura. Sobre la zona costera de la Isla Grande de tierra del Fuego y sus aguas interiores. Informe final para la Dirección de Recursos Naturales de la Prov. de Tierra del fuego Antártida e Islas del Atlántico sur. Consejo Federal de Inversiones de la República Argentina. Vol. I, II y II, 385 p.

REID PC. 1997. Discharges from hydroelectric power schemes as a trigger for marine algal blooms. Mar Pollut Bull. 34 (9): 730-733.

[SAGPYA] SECRETARÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2006. Capitulo XXIII Productos de la Pesca 23.24 Reglamento Sanitario de explotación y comercialización de moluscos y bivalvos vivos para consumo humano directo. Resolución SAGPYA 829/2006. Decreto 4238/68.

[SMN] SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2013. Boletín climatológico trimestral. Primavera. Vol. XXV 2013. 13 p. http://www3.smn.gob.ar/serviciosclimaticos/clima/archivo/clim-primav13.pdf.

SIMONSEN R. 1974. The diatom plankton of the Indian Ocean Expedition of R.V. "Meteor"

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 36
Secretaría Legislativa

1964-65. Meteor Forschungsergeb (D Biol). 19: 1-66.

SMAYDA, T.J. 2002. Turbulence, watermass stratification and harmful algal blooms: an alternative view and frontal zones as "pelagic seed banks". Harmful Algae. 1: 95-112.

SMAYDA TJ, REYNOLDS CS. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms J Plank Res. 23 (5): 447-461.

TOUZET N, FRANCO JM, RAINE R. 2008. Morphogenetic diversity and biotoxin composition of Alexandrium (Dinophyceae) in Irish coastal waters. Harmful Algae. 7: 782-797.

UTERMÖHL H. 1958. Zur vervollkommung der quantitative phytoplankton-methodik. Mitt Int Ver Theor Angew Limnol. 9: 1-38.

VERA P, AVARIA S, MUÑOZ P. 1996. Composición y distribución del fitoplancton de los fiordos adyacentes a Campos de Hielo Sur, Chile. Cienc Tecnol Mar. 19: 73-92.

WRIGHT JLC, QUILLIAM MA, CEMBELLA AD. 1995. Methods for domoic acid, the Amnesic Shellfish Poisons. En: HALLEGRAEFF GM, ANDERSON DM, CEMBELLA AD, editores. Manual on Harmful Marine Microalgae, COI, Manual Guides N° 33, UNESCO, Paris, p 113-133.

ZAPATA M, RODRIGUEZ F, GARRIDO JL. 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. Mar Ecol Prog Ser. 195: 29-45.

Recibido: 22.04.2019
Aceptado: 21.08.2019

TRABAJO PRESENTADO "IX JORNADAS NACIONALES DE CIENCIAS DEL MAR" REALIZADAS EN USHUAIA DEL 20 AL 25 SEPTIEMBRE 2015

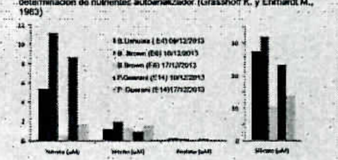
Poder Legislativo FOLIO Nº 37 Secretaría Legislativa

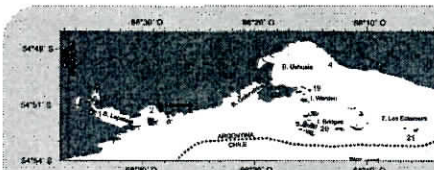
Fitoplancton y toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal de Beagle. Observaciones realizadas en el mes de diciembre 2013

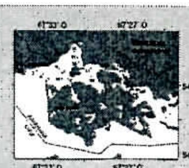
Luizón C (1,2), Benavides H (3), Carignan M (3), Eriksson N (1), Montoya N (3)
(1) Secretaría de Desarrollo Sustentable y Ambiente de la Provincia de Tierra del Fuego, Ushuaia, Argentina. (2) Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Río Grande (FRRG - UTN), Ushuaia, Argentina. (3) Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata.

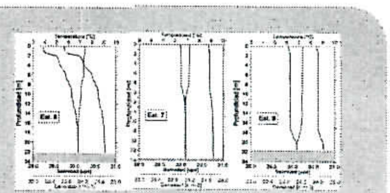
Antecedentes: Los eventos tóxicos son un fenómeno recurrente que causa riesgo sanitario e inconvenientes para el cultivo y extracción comercial de moluscos bivalvos en la región del Canal Beagle.
Con el objetivo de estudiar las especies de microalgas nocivas presentes en el área y las toxinas que producen se realizaron campañas de investigación en la región, en el marco de un acuerdo de cooperación entre el Gobierno de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur y el INIDEP.
Período estudiado diciembre de 2013

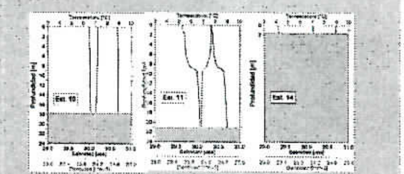
En B. Brown se observó una disminución de nitrato, fosfato y silicato entre la primera (10/12/13) y segunda (17/12/2013) semana de toma de muestras. Método de determinación de nutrientes autoanalizador (Grasshoff K. y Ehrhardt M., 1983)



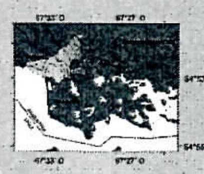


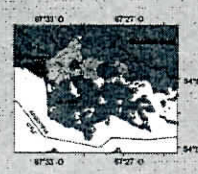






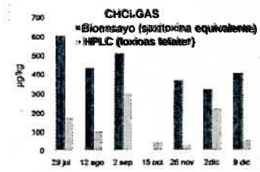
Se realizaron 14 perfiles de CTD para conocer la distribución de los parámetros físicos (temperatura, salinidad y densidad) en el área de B. Brown y su sistema de drenaje.
La distribución superficial de temperatura mostró un gradiente térmico suave, aumentando desde la entrada (E5, 7.19°C) hacia el interior registrándose el máximo en P. Guaraní (E14, 8.9°C) en correspondencia con la mínima profundidad del área (1.6 m). La distribución superficial de salinidad mostró un gradiente marcado en la zona externa de la bahía, entre el sector costero debido a la proximidad de la desembocadura del Río Almanza (E5, 29.74 ups) y el margen opuesto correspondiente a la I. Gable (E7, 30.67 ups) donde se registró la mayor salinidad del área. La salinidad disminuyó gradualmente hacia el interior de la bahía (E11, 30.31 ups), y hacia P. Guaraní (E14-16, 30.2 ups).

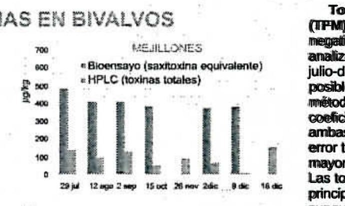


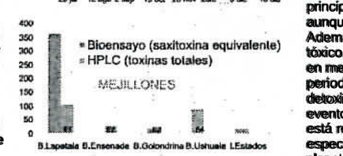


La distribución vertical de los parámetros físicos mostró una estratificación termohalina en las estaciones ubicadas en el interior de B.Brown (E11), con una termoclina poco desarrollada a 1 m de profundidad. En la región central de la bahía esta estructura se [illegible] sobre el fondo (E9), observándose una marcada mezcla vertical, que es completa en las proximidades de I. Gable por efecto de la circulación local (E10). En la entrada de la bahía (E 5) se observó [illegible] superficial de baja salinidad causada por el aporte del Río Almanza hasta los 2 m de profundidad, no registrada en la temperatura, y disminuyendo hacia el margen de I. Gable (E7). En P. Guaraní se registró una completa mezcla vertical debida a la baja profundidad, y una menor densidad del agua [illegible] (E14).

TOXINAS EN BIVALVOS

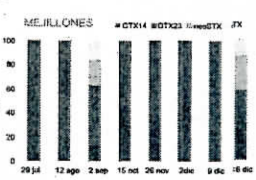


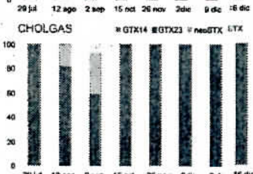




El análisis de toxinas en muestras de bivalvos mostró la presencia de TPM en muestras colectadas en B. Lapataia, B. Brown, B. Ensenada, B.Golondrina, B. Ushuaia e I. de los Estados. Es sabido que los mejillones al inicio de la incorporación de las toxinas paralizantes tienen un perfil tóxico que se asemeja al organismo productor, pero luego los procesos de transformación metabólica o enzimática causan la variación del perfil toxico (Oshima, 1995). Con el fin de estudiar estas transformaciones se amplió el periodo estudiado con muestras previas de cholgas y mejillones de B. Brown (E6, Balsa) desde julio a diciembre de 2013.
La toxicidad fue determinada por bioensayo segun el método oficial AOAC, 1995 y se expresa en µg STX eq/kg de tejido. El perfil tóxico y la concentracion total de toxinas fueron determinadas por HPLC segun el método de Oshima, 1995 y se expresa en µg/kg.

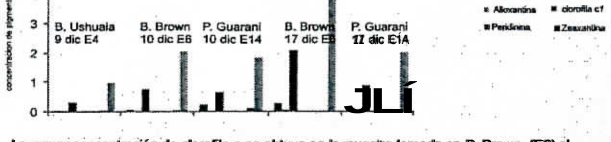
Toxina Paralizante de moluscos (TPM): Si bien se obtuvo resultado negativo en varias de las muestras analizadas por bioensayo en el periodo julio-diciembre de 2013, en todas fue posible detectar TPM empleando el método de HPLC, obteniéndose un bajo coeficiente de correlación (0,466) entre ambas metodologías, que pudo deberse al error típico del bioensayo (20-30%) o a la mayor sensibilidad del método por HPLC. Las toxinas detectadas fueron principalmente gonyautoxinas (GTX), aunque con proporción relativa variable. Además de estas variaciones en el perfil tóxico, la toxicidad, tanto en cholgas como en mejillones disminuyó durante este periodo, indicando un proceso de detoxificación de TPM adquirida en un evento tóxico previo. Esta observación está reafirmada por la ausencia de especies tóxicas en las muestras de plancton tomadas durante la campaña, a pesar de detectarse TPM en las muestras de bivalvos colectadas.





Toxina Amnésica de Moluscos: En las muestras de cholgas y de mejillones no se detectó TAM por HPLC. Método detección de TAM Wright et al. 1995)

PIGMENTOS (µg/l)



La mayor concentración de clorofila a se obtuvo en la muestra tomada en B. Brown (E6) el 17/12/2013 (5,29 µg L⁻¹). El pigmento carotenoide principal en todas las muestras fue fucoxantina indicando la dominancia de diatomeas. También se detectaron bajas concentraciones de Clb (prasinofitas) y Zeaxantina (Cyanoprocariotas). Se registró un aumento de la concentración de pigmentos entre el 10 y el 17 de diciembre, lo que indica un aumento de biomasa en concordancia con la diminución de nutrientes observada. [illegible] HPLC [illegible]

Consideraciones finales: El retraso sucesional en la comunidad fitoplanctónica y la ausencia de toxicidad observada en diciembre de 2013 pueden haber sido causadas por las inusuales condiciones climatológicas registradas en la región durante los meses previos, caracterizadas por anomalías térmicas negativas altamente significativas (-3 °C) para la región de Tierra del Fuego (Boletín meteorológico del SMN). Se estima importante el análisis de la climatología para ayudar a la interpretación de la variabilidad en los eventos tóxicos en la región.

Si bien el bioensayo permite en un tiempo reducido detectar TPM por debajo de lo que se considera un riesgo para la salud, el método de HPLC por su alta sensibilidad y especificidad permite detectar TPM en todas las muestras e identificar el perfil de toxinas en cholgas y mejillones. Para conocer la cinética de intoxicación y detoxificación en el área, será necesario realizar el estudio desde las etapas iniciales del evento tóxico.

Abundancia relativa de fitoplancton: Se tomaron muestras de fitoplancton cuantitativas y con red de 25 µm. Se identificó un total de 64 especies pertenecientes a los grupos de Diatomeas, Dinoflagelados, Silicoflagelados, Cryptophytas, Prasinophytas y Cyanoprocariotas. Los recuentos celulares por microscopio invertido mostraron una dominancia casi completa de diatomeas en el área de B. Brown, representada por cuatro especies del género Chaetoceros (C. socialis, C. debilis, C. [illegible] y C. [illegible]). En B. Lapataia se observó una población de una Cyanoprocariota solitaria, Synechocystis cf. salina que alcanzó una abundancia relativa casi completa, aunque su biomasa no fue significativa debido al reducido tamaño de las células (diámetro 2.5 µm). En B. Ushuaia, P. Kaleio e I. de los Pájaros la dominancia estuvo compartida entre ambos grupos. Una semana después, la población de Synechocystis cf. salina comenzó a desarrollarse en el interior de B. Brown.
Método de recuento en microscopio invertido (Utermohl 1958).

La composición específica de [illegible] por diatomeas en cadenas, de rápido crecimiento [illegible] retraso en las primeras etapas de la sucesión clásica del fitoplancton. Este retraso influyó en el patrón anual de los florecimientos de dinoflagelados nocivos, que normalmente causan los picos de toxicidad de bivalvos en este período.

Nahuel Eriksson
Director General de Laboratorio de Toxina y Microbiología
M.P.A. - S.P. y A.

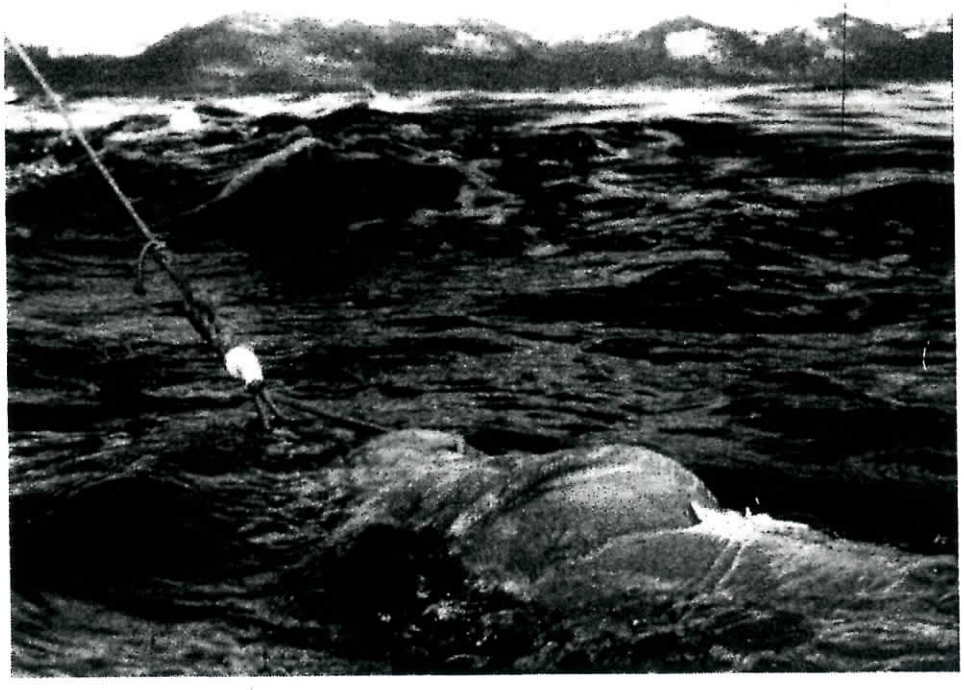
ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 38
Secretaría Legislativa

Nahuel Eriksson
Director General de Laboratorio
de Toxina y Microbiología
M.A.S.P.S.

INIDEP
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO PESQUERO

MICROALGAS NOCIVAS Y EVENTOS DE TOXICIDAD DE MOLUSCOS BIVALVOS EN EL ÁREA DEL CANAL BEAGLE, PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO, ANTÁRTIDA E ISLAS DEL ATLÁNTICO SUR.



Informe final sobre las actividades realizadas y los resultados obtenidos por el INIDEP en el marco del Acta Acuerdo Nº14.

Hugo Benavides, Nora Montoya y Mario Carignan.

2016

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 39 Secretaría Legislativa

INIDEP

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO

INFORME DE INVESTIGACIÓN

Número	Páginas	Fecha de aprobación
075/16	65	15/12/16

Dirección: DIRECCIÓN DE PESQUERIAS DE INVERTEBRADOS, PECES ~~PELAGICOS Y AMBIENTE MARINO~~

Programa / Gabinete: Medio Ambiente - Marea Roja

Actividad: MAR 9 Identificación microalgas nocivas y sus toxinas en el Canal Beagle

MICROALGAS NOCIVAS Y EVENTOS DE TOXICIDAD DE MOLUSCOS BIVALVOS EN EL ÁREA DEL CANAL BEAGLE, PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO, ANTÁRTIDA E ISLAS DEL ATLÁNTICO SUR

Las floraciones de dinoflagelados tóxicos ocurridas en Canal Beagle en los últimos años han causado riesgos para la salud y grandes perjuicios económicos en la pesqueria de moluscos bivalvos, obligando a imponer vedas en su recolección y comercialización. En el marco de un Convenio de Colaboración Reciproca entre el INIDEP y el gobierno de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur se firmó un acta acuerdo (N°14) para realizar una serie de estudios tendientes a conocer las especies de microalgas nocivas presentes en el área, las diferentes toxinas que estas producen y los factores ambientales asociados. Durante el periodo estudiado (diciembre 2013 y 2014) se observó una alteración en la estructura de la comunidad fitoplanctónica del área respecto a la observada en años previos para éste período del año, indicando un retraso en las primeras etapas de la sucesión clásica. Este retraso en la sucesión influyó en el patrón anual de formación de los florecimientos de especies nocivas en el canal, y consecuentemente en los niveles de toxicidad de bivalvos normalmente registrados en esta época. No obstante, mediante el análisis por HPLC se detectó la presencia de TPM en muestras de bivalvos (diciembre de 2013) y solo trazas en las muestras de plancton de diciembre de 2014, coincidiendo con una muy baja concentración de células tóxicas. Las toxinas detectadas fueron principalmente gonyautoxinas, no se detectó toxina amnésica de moluscos en ninguna de las muestras analizadas. Estos resultados preliminares aportan un conocimiento más detallado del perfil toxico de bivalvos de interés comercial complementando el monitoreo existente. El presente informe comprende los estudios efectuados por el INIDEP en colaboración con la SDSyA de la Provincia en el marco del Acta Acuerdo Nº14. Las actividades realizadas incluyen: practicas de capacitación, dos campañas de investigación y estudios autoecológicos en cultivos de dinoflagelados tóxicos aislados del Canal. Se presentan los resultados definitivos y conclusiones obtenidas durante los dos años de desarrollo del plan de investigación.

Citar Indicando la fuente. El contenido no debe ser reproducido total o parcialmente sin la expresa conformidad del INIDEP

SOLICITADO POR — Institución: | Cargo:

PREPARADO POR

Firma:
BENAVIDES, HUGO
Nombre: RODOLFO

Firma:
MONTOYA, NORA
Nombre: GLADYS

Firma:
CARIGNAN, MARIO
Nombre: OSVALDO

APROBADO POR

Jefe de Programa / Gabinete

Dr. MARCELO PAJARO
A/C DIRECCION
Pesquerías de Invertebrados, Peces Pelágicos y Ambiente Marino
Director del área

Dr. OTTO C. WÖHLER
DIRECTOR
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION Y DESARROLLO PESQUERO
Director Nacional de Investigación
INIDEP

Director del INIDEP

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 40 Secretaría Legislativa

MICROALGAS NOCIVAS Y EVENTOS DE TOXICIDAD DE MOLUSCOS BIVALVOS EN EL ÁREA DEL CANAL BEAGLE, PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO, ANTÁRTIDA E ISLAS DEL ATLÁNTICO SUR.

Informe final sobre las actividades realizadas y los resultados obtenidos por el INIDEP en el marco del Acta Acuerdo Nº14.

Hugo Benavides, Nora Montoya y Mario Carignan.

1. ANTECEDENTES

Las floraciones de dinoflagelados tóxicos ocurridas en Canal Beagle en los últimos años han causado grandes perjuicios económicos en la pesquería de moluscos bivalvos, obligando a imponer vedas en su recolección y comercialización. En esta región se explota comercialmente el mejillón (*Mytilus edulis*), obtenido por recolección o cultivo a una escala artesanal o industrial. La producción media entre los años 2003 y 2009 fue de 52,8 t anuales, de la cual el 31,9% correspondió al mejillón de cultivo producido en la zona de Puerto Almanza (Bertolotti et al., 2014). Se han evaluado las posibilidades para el crecimiento y desarrollo regional de la actividad, aunque se detectaron algunos problemas en su cadena productiva. Una seria dificultad es la alta frecuencia de eventos tóxicos causados por el florecimiento (crecimiento extraordinario) de microalgas nocivas, conocidos como "marea roja", que originan vedas que pueden inmovilizar la producción por largos períodos; y que habitualmente coinciden con el período de recolección de la cosecha (Bertolotti et al., 2014; Alvarez, 2012).

Las toxinas de mayor riesgo registradas en el Canal Beagle son las denominadas "Toxinas Paralizantes de los Moluscos" (TPM), un grupo de neurotoxinas originadas por dinoflagelados del género Alexandrium, que son bio-acumuladas en los moluscos bivalvos por filtración. Aunque los florecimientos de *Alexandrium catenella* fueron registrados en la región de los fiordos chilenos en 1972 (Guzmán & Campodónico, 1975; Guzmán & Lembeye, 1975), no se detectaron evidencias de toxicidad en las costas de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur en ese período. La Dirección de Recursos Naturales de esta provincia realizó controles de toxicidad a partir de 1985, que dieron resultados negativos hasta fines de 1991. En dicha temporada se produjo una intensa marea roja provocada por *Alexandrium catenella,* en la que se registraron niveles de toxicidad extremadamente elevados (127.200 µg de STXeq/100 g) (Benavides et al., 1995). Esta marea roja produjo un gran impacto social y económico sobre la región, causando varias muertes humanas, numerosas intoxicaciones y mortandad de organismos marinos. La Secretaría de Desarrollo Sustentable y Ambiente de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur ha dado continuidad al sistema de monitoreo de las floraciones de microalgas tóxicas, que incluye el control de todos los bivalvos que ingresan en la cadena comercial.

Otras especies tóxicas como algunos dinoflagelados del género Dinophysis han sido detectadas posteriormente en la región, ocasionando vedas por "Toxina Diarreica de Moluscos" (TDM) (Alvarez, 2012; Almandoz et al.,2011; Goya & Maldonado, 2014). Recientemente se ha detectado en el canal "Toxina Amnésica de Moluscos" (TAM) (Krock et al., 2015), producidas por algunas diatomeas, aunque aún no se han identificados las especies que las producen en el Canal Beagle. También en esta región se han detectado, y por primera vez en el país, toxinas del grupo "espirólido" en mejillones y en muestras naturales de fitoplancton (Amandoz et al., 2014; Montoya et al 2012). Los espirólidos son un grupo de toxinas marinas conocidas como "toxinas de rápida acción" por su inmediato efecto letal en los bioensayos con ratones. Son producidas por algunos dinoflagelados, siendo *Alexandrium ostenfeldii* las especie conspicua, identificada como productora de espirólidos en el Canal Beagle. Esta especie fue también asociada a la producción de TPM, presentando una gran variabilidad en la producción de uno u otro grupo de toxinas de acuerdo a su localización geográfica. (Cembella et al., 2000. Touzet et al., 2008. Kremp et al., 2009).

A través de los estudios realizados en años recientes en el Canal Beagle y los fiordos chilenos, se ha registrado un número creciente de especies de microalgas tóxicas y de los diferentes complejos tóxicos que estas producen, ampliándose así el espectro de posibles riesgos por consumo de bivalvos en la región.

Marco de referencia.

Las investigaciones del INIDEP en el Canal Beagle comenzaron a partir del año 1991, en oportunidad de producirse el primer evento tóxico en la región. Los estudios se realizaron en colaboración con la Dirección de Recursos Naturales de la provincia, y se desarrollaron por un período de 4 años. Los mismos se reanudaron en 2008, cuando en el canal se detectaron eventos de toxicidad con características atípicas en su desarrollo, y niveles muy variables de toxicidad analizados por bioensayo con ratones. (Montoya, 2008; Benavides & Montoya, 2010; Almandoz et al., 2011).

En noviembre de 2013 fue suscripta el Acta Acuerdo Nº14 entre el Gobierno de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur y el INIDEP; en el marco del Convenio de Colaboración Recíproca firmado entre ambas partes en agosto de 1979, actualmente en vigencia. El Acta Acuerdo Nº14 tuvo por objeto realizar estudios conjuntos sobre la ocurrencia de florecimientos de microalgas nocivas, y especialmente de eventos tóxicos en moluscos bivalvos en el área del Canal Beagle; complementando la capacidad técnica y operativa de ambas partes.

El acuerdo de cooperación fue suscripto por un plazo de dos años, durante el cual se realizaron dos campañas conjuntas para el muestreo y toma de datos de campo; y pasantías en el INIDEP para el adiestramiento de investigadores del Laboratorio Ambiental de la SDSyA en el reconocimiento de especies de dinoflagelados tóxicos y técnicas para el análisis de muestras de fitoplancton. Durante el período de duración del plan de investigación convenido en el Acta Acuerdo Nº14 se llevaron a cabo dos pasantías de capacitación, y se estableció un fluido intercambio de información y consulta que permitió consolidar la capacitación adquirida por el personal de la SDSyA y conocer la variación de la comunidad fitoplanctónica durante el año.

Se realizaron dos campañas de investigación en el área, en los meses de diciembre de 2013 y 2014. Las campañas se realizaron con el apoyo logístico de la SDSyA para los traslados y la toma de muestras, facilitando una embarcación semi-rígida y el personal técnico necesario para realizar las tareas de campo. Las muestras obtenidas fueron analizadas en el INIDEP y los resultados parciales remitidos a la SDSyA a través de un informe de avance presentado en enero de 2015 (Montoya et al., 2015). Los resultados incluidos en este informe de avance sirvieron de base para la elaboración de un trabajo científico: *"Fitoplancton y toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal de Beagle. Observaciones realizadas en el mes de diciembre 2013."*, por Luizón C., Benavides H. ,Carignan M., Eriksson N. y Montoya N. El trabajo fue presentado en las *"IX Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar"* realizadas en Ushuaia del 20 al 25 de septiembre de 2015.

Adicionalmente, se emplearon muestras vivas de fitoplancton colectadas durante las campañas de investigación realizadas, para aislar y mantener en cultivo especies de microalgas nocivas. Los cultivos obtenidos fueron empleados para realizar estudios auto-ecológicos, que permitieron analizar en detalle las características taxonómicas, fisiológicas, químicas y moleculares de las especies más importantes que periódicamente ocasionan eventos tóxicos en Canal. Los resultados obtenidos a partir de los cultivos del dinoflagelado *Alexandrium ostenfeldii* aislados fueron empleados para elaborar una publicación científica (Almandoz et al., 2014).

El presente informe comprendelas actividades realizadas en colaboración con la SDSyA de la Provincia de Tierra del Fuego,Antártida e Islas del Atlántico Sur ,y los estudios efectuados por el INIDEP en el marco del Acta Acuerdo Nº14. Se presentan los resultados definitivos y conclusiones obtenidas durante los dos años de desarrollo del plan de investigación.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
Poder Legislativo FOLIO 41 Secretaría Legislativa

2. ACTIVIDADES DE CAPACITACIÓN REALIZADAS.

Como parte de las actividades previstas en el Acta Acuerdo Nº14, el MSc. Carlos A. Luizón, perteneciente al Laboratorio Ambiental de la SDSyA, realizó una estadía de capacitación en el laboratorio Producción Primaria y Biotoxicidad del INIDEP, entre los días 18 y 22 de noviembre de 2013 (Benavides, 2013). La misma tuvo como objetivo el adiestramiento del MSc. Luizón en el uso de las principales técnicas de muestreo y análisis microscópico de muestras de fitoplancton, y proporcionar los conocimientos básicos para identificar las especies de dinoflagelados tóxicos en la región del canal Beagle.

La capacitación se efectuó bajo la supervisión del Lic. Hugo Benavides y la colaboración de la Dra. Rut Akselman y la Lic. Nora Montoya. Abarcó un total de 35 horas distribuidas en 5 días de trabajo, e incluyó la explicación de conocimientos teóricos y la observación microscópica de muestras de fitoplancton y de cultivos de especies tóxicas.

Contenidos de la capacitación.

Identificación de dinoflagelados tóxicos.

- Características generales de los dinoflagelados. Morfología de la cubierta celular. Tabulación de placas y fórmulas tecales. Reconocimiento y observación de diferentes tipos de dinoflagelados en muestras vivas de fitoplancton.
- Dinoflagelados dinophysioides: El género Dinophysis. Morfología tecal, nomenclatura y medidas. Características más importantes para la identificación de especies. *Dinophysis acuminata, D. caudata, D. tripos y D. rotundata*. Reconocimiento e identificación de las especies empleando muestras de fitoplancton preservadas
- Dinoflagelados gonyaulacoides. El género Alexandrium. Morfología tecal, nomenclatura y medidas. Características más importantes para la identificación de especies. *Alexandrium tamarense, A. catenella, A. minutum y A. ostenfeldii.* El género Protoceratium. *Protoceratium reticulatum*.
- Dinoflagelados prorocentroides. El género Prorocentrum. Morfología tecal y nomenclatura. *Prorocentrum lima*.

Metodologías de trabajo y técnicas de análisis microscópico.

- Obtención de muestras naturales con red de fitoplancton. Características de las redes. Detalles de construcción.
- Preservación y almacenaje de las muestras. Diferentes tipos de fijadores y su aplicación. Ventajas e inconvenientes de los mismos.
- La medición microscópica. El ocular micrométrico. Calibración de la escala micrométrica. Uso de los factores de calibración para la medición microscópica.
- Empleo de técnicas microscópica de tinción y desarticulación de placas tecales para la identificación de dinoflagelados.

Las diferentes toxinas producidas por dinoflagelados y sus métodos de medición.

- Características de los eventos tóxicos registrados en Argentina y especies que las producen. Métodos y ensayos para evaluar los diferentes tipos de toxinas (paralizantes, amnésicas y lipofílicas). Ventajas e inconvenientes de cada uno.
- Métodos aceptados por la Unión Europea. Límites máximos permitidos.
- La transferencia trófica de las toxinas. Estudios realizados en el canal Beagle.

3. CAMPAÑAS DE INVESTIGACIÓN REALIZADAS.

Se realizaron dos campañas de investigación en el área de Canal Beagle, con el propósito de estudiar las especies de microalgas nocivas presentes en el área y las diferentes toxinas que producen, causando riesgos sanitarios e inconvenientes para la maricultura en la región desde 1991. Las campañas fueron denominadas como *Beagle 02/13*, realizada entre los días 7 y 20 de diciembre de 2013, y *Beagle 01/14*, entre los días 12 y 22 de diciembre de 2014.

Con anterioridad a la realización de las campañas de investigación previstas en el Acta Acuerdo Nº14 se realizó una campaña exploratoria en el área (*Beagle 01/13*) entre los días 7 y 15 de septiembre de 2013 con el propósito de seleccionar los sitios de muestreo, evaluar los aspectos operativos y necesidades logísticas para la realización de los muestreos planificados y realizar los ajustes necesarios para la implementación de las metodologías a emplear.

Objetivos de las campañas de investigación.

- Identificar las especies tóxicas o potencialmente tóxicas presentes en el plancton, y los factores ambientales asociados a su desarrollo.
- Conocer su perfil de toxinas y las transformaciones que estas realizan al ser metabolizadas por organismos de diferentes niveles tróficos.
- Evaluar el empleo de sistemas pasivos de muestreo (bolsas SPATT) para el monitoreo de diferentes toxinas marinas.

Área de estudio.

Las campañas se realizaron en un área del sector argentino del Canal Beagle (54°55′ S) entre 67°25′ O y 68°34′ O (Fig. 1). Dentro de la misma, el estudio se focalizó en la Bahía Almirante Brown (54°52,50′ S – 67°33,50′ O) (Fig. 2), principal área de cultivo y extracción comercial de moluscos bivalvos en la región, donde fueron registrados niveles anómalos de toxicidad en años previos.

La Ba. A. Brown está ubicada en la costa septentrional del canal Beagle, en el margen sur del sector argentino de la isla Grande de Tierra del Fuego (54°52′30" S – 67°32′00"). Su superficie total es de 7,37 km^2 y tiene una profundidad media de 11,0 m(Quiros et al., 1993).Presenta una entrada amplia (desde Bal. Dirección hasta Pta. Gable), que conduce a una más cerrada de 1,65 km de ancho (entre Pta. Almanza y Morro Gibraltar); donde la profundidad supera los 20 m. Su parte más ancha tiene 2,6 km y su longitud es de aproximadamente 8,6 km. La bahía no está internamente cerrada debido a que en su interior se comunica con las aguas del canal principal del Beagle al este de la I. Gable, mediante un brazo marítimo que contornea el borde Norte de la isla. Las mareas son del tipo "*semidiurno*" con marcada diferencia de amplitud entre las dos ondas sucesivas (*desigualdades diurnas*), y una amplitud media de 1,20 m. (Balestrini et al., 1998).

En el extremo oeste del sector argentino del Canal Beagle se realizaron estaciones de muestreo adicionales (Fig. 3) con el propósito de comparar las comunidades de fitoplancton, y los niveles de toxicidad de los bivalvos con los hallados en la Ba. A. Brown. Con este muestreo se busca evaluar la hipótesis de que los florecimientos se inician en los fiordos chilenos y son trasladados desde el oeste por la circulación general de las aguas del canal, o que por el contario se desarrollan localmente por germinación de las hipnocigotas dentro de la bahía, o eventualmente por ambas condiciones.

3.1. Campaña *Beagle 02/13*.

La primera campaña de investigación, *Beagle 02/13*, se realizó entre los días 7 y 20 de diciembre de 2013; con la participación de la Lic. Nora Montoya y el Lic. Hugo Benavides, pertenecientes al

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO 6 Nº 42 Secretaría Legislativa

Proyecto Mareas Rojas del INIDEP, el MSc. Carlos Luizón del Laboratorio Ambiental de la SDSyA y el personal de la Dirección General de Desarrollo Pesquero y Acuícola de la SDSyA de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur. La campaña se desarrolló según lo previsto en el correspondiente plan de campaña, cumpliéndose satisfactoriamente los objetivos planteados para la misma.

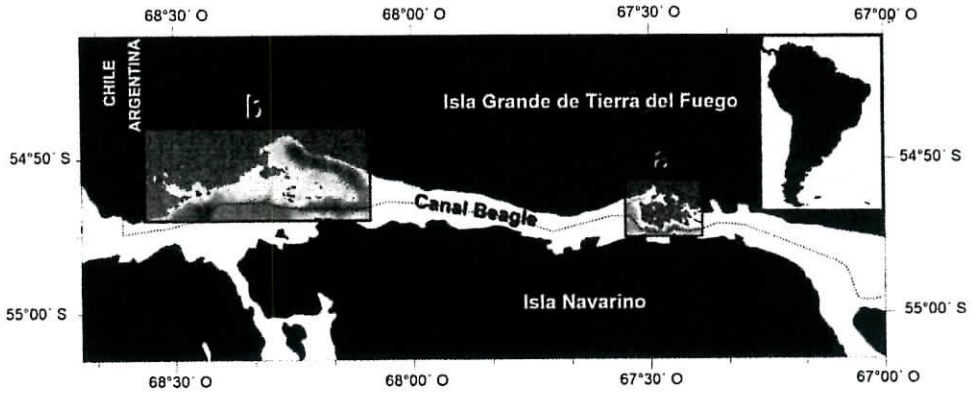


Figura 1. Ubicación del área de estudio y sectores del Canal Beagle donde se realizó la toma de muestras. A) Sector de Bahía A. Brown y su sistema de drenaje. B) Sector de Bahía Lapataia y Bahía Ushuaia en el extremo oeste de la parte argentina del Canal Beagle

Se realizaron 14 estaciones de muestreo en el sector de Ba. A. Brown y su sistema de drenaje (Fig. 2). Tres de estas ubicadas en la entrada de la bahía (estaciones **5, 6** y **7**), tres en la zona media (estaciones **8, 9** y **10**), tres en el interior (estaciones **11, 12** y **13**) y cinco estaciones más situadas en el sistema de drenaje de la bahía; dos de ellas frente a la I. Upú (Punta Lápiz) (estaciones **14** y **15**) y tres en el paso Guaraní medio (estaciones **16, 17** y **18**). La estación **6** fue realizada en las proximidades de una balsa de cultivo de mejillones fondeada en sector central de la bahía, donde se fijaron bolsas SPATT bajo la superficie. Después de un período de exposición 7 días las bolsas SPATT fueron remplazadas, repitiéndose el muestreo realizado previamente en las estaciones **6, 11, 14** y **17** (estaciones **22, 23, 24** y **25**).

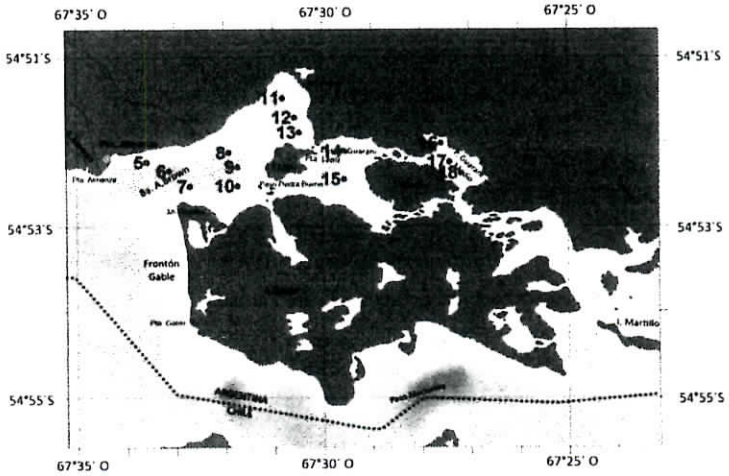


Figura 2. Distribución geográfica de las estaciones de muestreo realizadas en el sector de Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

En el extremo oeste del sector argentino del Canal Beagle se realizaron 7 estaciones de muestreo adicionales con el propósito de comparar las comunidades de fitoplancton y los niveles de toxicidad de

los bivalvos (Fig. 3). Se ubicaron en Ba. Lapataia (estación **1**), Ba. Ensenada (estación **2**), Ba. Golondrina (estación **3**) y Ba. Ushuaia (estación **4**), cuyas características ambientales son favorables para el desarrollo de dinoflagelados (circulación restringida y aportes de agua continental); y en la parte central del canal, frente a Ba. Ushuaia (estaciones **19**, **20** y **21**).

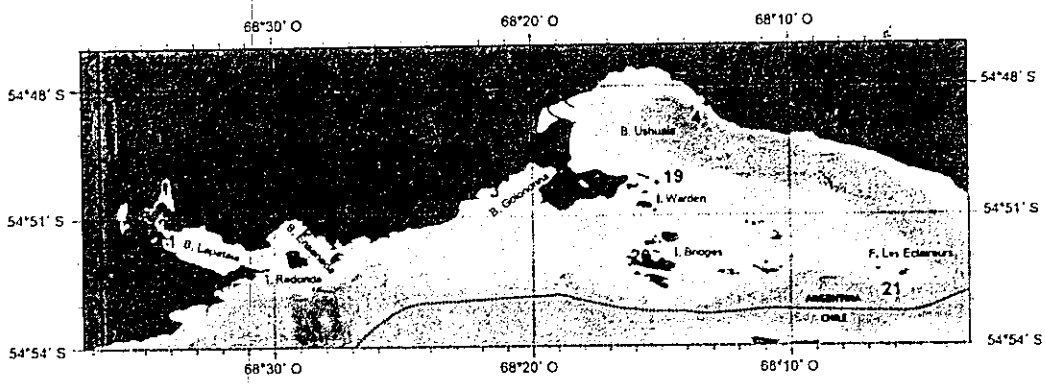


Fig. 3. Distribución geográfica de las estaciones de muestreo realizadas en el sector de Ba. Lapataia y Ba. Ushuaia durante la campaña Beagle 02/13.

Muestras obtenidas.

La obtención de muestras y la medición de parámetros ambientales (CTD) en Ba. A. Brown fueron realizadas empleando una embarcación semi-rígida provista por la Sub-Secretaría de Pesca y Acuicultura. Las muestras de agua de mar y de fitoplancton obtenidas en Ba. Lapataia, Ba. Ensenada, Ba. Golondrina y Ba. Ushuaia fueron tomadas desde los muelles existentes en cada lugar, y las muestras de mejillones de estos sitios fueron tomadas en la línea de costa. Las muestras obtenidas en el sector central del Canal Beagle fueron tomadas desde las embarcaciones de la empresa local de excursiones marítimas *Rumbo Sur* S.R.L.

En cada estación se obtuvo la posición geográfica (GPS), se realizó un registro vertical de temperatura y salinidad, y se tomaron muestras de fitoplancton cuantitativas y de red. En las estaciones **4, 6, 14, 22 y 25** se obtuvieron muestras de fitoplancton por fracciones de tamaño y de zooplancton para análisis de toxinas; y muestras para análisis de nutrientes y pigmentos fotosintéticos. La estación 6 fue situada próxima al lugar de fijación de la balsa de cultivo de mejillones, donde se colectaron muestras de moluscos bivalvos para análisis de toxinas y se realizó el recambio de las bolsas SPATT, colocadas una semana antes.

Se realizaron las siguientes actividades de muestreo y toma de datos (Tabla 1):

Tabla 1. Fecha, posición y muestras obtenidas en las estaciones de muestreo realizadas en la campaña Beagle 02/13.

Est.	Fecha	Ref. geográfica	Longitud	Latitud	Muestras obtenidas
1	09-12-13	Ba. Lapataia	68°34,397' O	54°51,322' S	Fitoplancton red/cuantitativa
2	09-12-13	Ba. Ensenada	68°28,830' O	54°50,809' S	Fitoplancton red/cuantitativa - mejillón (banco)
3	09-12-13	Ba. Golondrina	68°20,978' O	54°50,497' S	Fitoplancton red/cuantitativa - mejillón (banco)
4	09-12-13	Ba. Ushuaia (P.Larga)	68°13,155' O	54°48,386' S	Fitoplancton red/cuantitativa - mejillón (banco)- toxinas - pigmentos - nutrientes – zooplancton
5	10-12-13	Ba. Brown (exterior)	67°33,292' O	54°52,302' S	Fitoplancton red/cuantitativa – CTD

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
Poder Legislativo FOLIO 8 Nº 43 Secretaría Legislativa

6	10-12-13	Ba. Brown (exterior)*Balsa*	67°32,769´ O	54°52,411´ S	Fitoplancton red/cuantitativa - CTD - toxinas - pigmentos - nutrientes - mejillón (*balsa*) - zooplancton – SPATT
7	10-12-13	Ba. Brown (exterior)	67°32,387´ O	54°52,532´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
8	10-12-13	Ba. Brown (medio)	67°31,740´ O	54°52,230´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
9	10-12-13	Ba. Brown (medio)	67°31,545´ O	54°52,354´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
10	10-12-13	Ba. Brown (medio)	67°31,659´ O	54°52,541´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
11	10-12-13	Ba. Brown (interior)	67°30,619´ O	54°51,694´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
12	10-12-13	Ba. Brown (interior)	67°30,411´ O	54°51,858´ S	Fitoplancton red/cuantitativa - CTD –
13	10-12-13	Ba. Brown (interior)	67°30,297´ O	54°51,964´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
14	10-12-13	Paso Guaraní (medio)	67°27,497´ O	54°52,128´ S	Fitoplancton red/cuantitativa - CTD- toxinas - pigmentos - nutrientes - zooplancton
15	10-12-13	Paso Guaraní (medio)	67°27,058´ O	54°52,235´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
16	10-12-13	Paso Guaraní (medio)	67°26,849´ O	54°52,425´ S	Fitoplancton red - fitoplancton cuantitativa – CTD
17	10-12-13	Pta. Lápiz	67°29,302´ O	54°52,172´ S	Fitoplancton red/cuantitativa– CTD
18	10-12-13	Pta. Lápiz	67°29,220´ O	54°52,477´ S	Fitoplancton red/cuantitativa – CTD
19	13-12-13	I. Warden (I.de los Pájaros)	68°15,110´ O	54°50,206´ S	Fitoplancton red/cuantitativa
20	13-12-13	I. Bridges (Pto. Karelo)	68°14,929´ O	54°52,021´ S	Fitoplancton red/cuantitativa
21	13-12-13	I. Les Eclaireurs (faro)	68°05,664´ O	54°52,373´ S	Fitoplancton red/cuantitativa
22	17-12-13	Ba. Brown (exterior) *Balsa*	67°32,769´ O	54°52,411´ S	Fitoplancton red/cuantitativa - toxinas - pigmentos - nutrientes - zooplancton
23	17-12-13	Ba. Brown (interior)	67°30,411´ O	54°51,858´ S	Fitoplancton red/cuantitativa
24	17-12-13	Pta. Lápiz	67°29,302´ O	54°52,172´ S	Fitoplancton red/cuantitativa
25	17-12-13	Paso Guaraní (medio)	67°27,058´ O	54°52,235´ S	Fitoplancton red/cuantitativa - toxinas - pigmentos - nutrientes – zooplancton

Instrumental y métodos empleados para la obtención de las muestras.

Medición de variables ambientales.

En las estaciones realizadas en Ba. A. Brown se hicieron mediciones verticales de temperatura y conductividad del agua mediante un perfilador CTD auto-contenido *Citadel-NV*, empleando una frecuencia de 25 registrosseg^{-1} y una velocidad de descenso aproximada de 50 cmseg^{-1}. Se tomaron muestras de 250 ml de agua de mar para realizar un análisis posterior de la salinidad en el Gabinete de Oceanografía Física del INIDEP, con el fin de calibrar de las mediciones de los perfiles.

Los datos provenientes del CTD fueron filtrados y estandarizados de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Conversión del dato hexadecimal a unidades ingenieriles.
- Separación de perfiles de descenso y ascenso.
- Alineación en la respuesta de los sensores de temperatura y conductividad.
- Cálculo de los parámetros derivados (salinidad y densidad).
- Generación de niveles estándar (intervalo = 0,5 db).

Los datos de temperatura, salinidad y densidad de cada estación CTD se presentan en el **Anexo 1**, listados a intervalos de 0,5 db. La información de cabecera incluye la fecha y hora, posición y profundidad de la estación. La distribución vertical de las variables registradas se presenta gráficamente mediante los perfiles elaborados para cada estación.

En las estaciones realizadas desde los muelles y sobre el centro del canal se empleó un balde de muestreo y un termómetro de mercurio protegido para las mediciones de temperatura superficial.

Muestras de agua de mar.

Se tomaron muestras de agua para el análisis de pigmentos y de nutrientes, que se realizaron posteriormente en el Laboratorio de Producción Primaria y Biotoxicidad del INIDEP.

En la entrada de la Ba.A. Brown, (donde está ubicada la balsa para cultivo de bivalvos), Paso Guaraní Medio y Ba. Ushuaia, se tomaron muestras de agua superficial para análisis de pigmentos y de nutrientes. Para el análisis de pigmentos, muestras de 1,5 L de agua fueron previamente tamizadas con una malla de 80 µm y filtradas por filtros de fibra de vidrio Wahtman GF/F (0,7 µm de poro). Los filtros se almacenaron a -20°C. Para el análisis de nutrientes, 10 ml de cada muestra fueron filtrados por filtros de fibra de vidrio Wahtman GF/F y almacenados a-20°C. El traslado de las muestras congeladas desde Puerto Almanza hasta la ciudad de Ushuaia, y desde Ushuaia hasta a Buenos Aires, se realizó en contenedores refrigerados con gel especial a-21°C. Al arribar a Buenos Aires las muestras fueron acondicionadas con nitrógeno líquido para ser transportadas hasta Mar del Plata. El análisis de nutrientes (fosfato, silicato, nitrato y nitrito) se realizó por medio de un autoanalizador Technicon TA II (Grasshoff K. & Ehrhardt M., 1983, Hydes et al., 2010).

Análisis de pigmentos

La extracción de pigmentos del material retenido en el filtro fue realizado mediante ultrasonido durante 30 segundos a 0°C con metanol 100% como disolvente. Para eliminar los desechos celulares los extractos fueron filtrados a través de filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/F). Inmediatamente antes de la inyección en el sistema de HPLC, los extractos fueron diluidos con agua hasta obtener una solución de metanol 70 % (Jeffrey et al., 1997). Alícuotas de estos extractos fueron inyectadas automáticamente en un sistema de HPLC Shimadzu LC 10A. Para el análisis de los pigmentos se utilizó el método de Zapata et al., (2000). Los pigmentos fueron identificados por sus tiempos de retención y espectros de absorción, obtenidos en continuo por el detector de arreglo de diodos. Para la cuantificación de los pigmentos identificados, se emplearon estándares de alta pureza que fueron adquiridos en el VKI (The International Agency for ^{14}C Determination, Denmark) o de cultivos de *Emiliania huxleyi* (Haptophyta) clon CCMP 370 y *Alexandrium tamarense* clon MDQ 1096 (Dinophyceae). Aquellos pigmentos detectados para los que no se conocen los coeficientes de extinción, se cuantificaron empleando los coeficientes de extinción de los pigmentos conteniendo el cromóforo de mayor similitud (por ejemplo la clorofila c3 fue cuantificada como equivalentes de clorofila c2). Los resultados del análisis se expresan en µg de pigmento contenidos en un litro de muestra.

Muestras de fitoplancton.

En todas las estaciones se tomaron muestras de fitoplancton mediante barridos horizontales con red de 20 µm de malla para analizar las especies de microalgas presentes. Las mismas fueron transportadas vivas hasta el laboratorio donde una fracción fue fijada con formaldehído neutralizado al 4% y otra fracción fue mantenida para estudios *in-vivo*. También se tomaron muestras de agua de 250 ml. para estimar la concentración de especies de microalgas tóxicas, las que fueron fijadas con solución de Lugol (Utermöhl, H., 1958).

Las muestras tomadas con red de fitoplancton fueron examinadas empleando microscopía de

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
Poder Legislativo FOLIO Nº 44 Secretaría Legislativa

campo claro, contraste de fases, contraste diferencial de interferencia (DIC) y epi-fluorescencia. En el Laboratorio Ambiental de la SDSyA se realizó un análisis preliminar de las muestras antes de ser preservadas para observar organismos delicados y formas flageladas. Para la observación de las diatomeas presentes, las muestras fueron tratadas con una solución de NaClO, lavadas con agua destilada (Ferrario et al., 1995) y montadas en Styrax. Algunas especies de diatomeas requirieron el empleo de microscopía electrónica de barrido (MEB) para su identificación. Se contrató el servicio de MEB de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata, pero las muestras no pudieron ser observadas satisfactoriamente en el MEB debido a algunas dificultades encontradas en el tratamiento para esta metodología. Las dificultades se debieron a la muy baja silicificación que presentaron los frústulos de las diatomeas, lo que disminuyó marcadamente su resistencia a los tratamientos químicos de limpieza usados rutinariamente. Se ensayaron varios métodos alternativos de tratamientos menos enérgicos para evitar que los frústulos colapsen o se disuelvan. Primeramente se empleó una oxidación con $KMnO_4$ en medio ácido (Simonsen 1974). Luego se probaron tratamientos con HCL, HNO_3, y finalmente con NaClO (Ferrario et al., 1995). Con ninguno de los métodos ensayados se obtuvieron resultados satisfactorios. El tratamiento con NaClO permitió conservar la estructura de los frústulos pero no produjo una limpieza completa de la materia orgánica de las células. Se ensayaron diferentes tiempos de reacción, pero sin obtener un resultado óptimo. Por estos motivos la identificación de algunas especies de diatomeas no pudo ser completada hasta el nivel específico; principalmente las pertenecientes al género Pseudo-nitzschia, representado en las muestras por cuatro especies que fueron reunidas como *Pseudo-nitzschia spp.*

Los conteos celulares de las muestras cuantitativas tomadas en Ba. Ensenada y Ba. Golondrina no fueron considerados por contener una alta cantidad de sedimento, que introdujo un gran error en las estimaciones. La gran cantidad de sedimento se debió a que las mismas fueron tomadas en la línea de costa, con escasos centímetros de profundidad. Igualmente, la muestra tomada en la I. Les Eclaireurs tampoco fue considerada por la cantidad de sedimento en suspensión debido a las condiciones de mar agitado encontradas en el momento del muestreo.

Para la identificación de dinoflagelados se realizó una tinción de las placas empleando una solución de Lugol, o con Calcofluor, según la técnica descripta por Fritz & Trimer (1985). Para el análisis cuantitativo de las muestras se realizaron recuentos celulares en microscopio invertido siguiendo el método propuesto por Utermöhl (1958). Sub-muestras de 50 ml fueron sedimentadas por 24 hs en cámaras de sedimentación compuestas y observadas con iluminación por campo claro y DIC. Cada muestra fue analizada empleando tres niveles de magnificación. Las especies más grandes o poco frecuentes se observaron con100x, recorriendo el fondo completo de la cámara de sedimentación. Las especies de menor tamaño fueron observadas empleando una magnificación de 400x en una o más bandas correspondientes al diámetro máximo de la cámara de sedimentación. Las especies más pequeñas o de gran abundancia fueron enumeradas usando una magnificación de 600x en bandas diametrales.

Muestras para análisis de toxinas.

Toxinas en Plancton.

En la entrada de Ba.A. Brown (balsa), Paso Guaraní Medio y Ba. Ushuaia se colectaron muestras de plancton para el análisis de toxinas en diferentes fracciones de tamaño (Tabla 2). Un volumen de 20 litros de agua se tamizó sucesivamente por mallas de 150 µm, 65 µm y 20 µm. Una alícuota del material retenido en la fracción 65 - 150 µm, se preservó una parte en formol para identificar las especies zooplanctónicas presentes, y el resto de material tamizado se filtró por un filtro de fibra de vidrio GF/F para el estudio de toxinas (toxinas en fracción 150 - 65 µm). El filtrado del segundo tamiz (65 µm), se pasó por una malla de 20 µm. El material retenido (fracción 65 - 20 µm), fue resuspendido y llevado a un volumen final de 300 ml con agua de mar filtrada, preservándose en formol para el recuento de células fitoplanctónicas, una alícuota de 50 ml de este concentrado. Los 250 ml restantes, se

filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Wathman GF/F para el análisis de toxinas (toxinas en fracción 65 - 20 µm). El material particulado contenido en una alícuota de 1,5 Ld el filtrado resultante del paso por la malla de 20 µm, se retuvo sobre un filtro GF/F para estudiar las toxinas en esta fracción de plancton (fracción < 20 µm) (Tabla 2).

Tabla 2: Muestras para el análisis de toxinas en diferentes fracciones del plancton y en el gel SPATT.

Estación	Fecha	Lugar	Característica de la muestra		
balsa	28-11-13	Ba.A. Brown (entrada)	Gel SPATT TLM, 2m de profundidad (duplicado)		
balsa	28-11-13	Ba.A. Brown (entrada)	Gel SPATT TLM, 10m de profundidad (duplicado)		
6	10-12 13	Ba. A. Brown (entrada)	Gel SPATT TLM, 2m de profundidad (duplicado)		
6	10-12 13	Ba. A. Brown (entrada)	Gel SPATT TLM, 10m de profundidad (duplicado)		
22	17-12 13	Ba. A. Brown (entrada)	Gel SPATT TLM, 2m de profundidad (duplicado)		
22	17-12 13	Ba. A. Brown (entrada)	Gel SPATT TLM, 10m de profundidad (duplicado)		
6	10-12 13	Ba. A. Brown (entrada)	Plancton 150<f<65 µm	Plancton 65<f<20 µm	Plancton 20 µm <f
6	17-12 13	Ba. A. Brown (entrada)	Plancton 150<f<65 µm	Plancton 65<f<20 µm	Plancton 20 µm <f
14	10-12 13	Paso Guaraní medio	Plancton 150<f<65 µm	Plancton 65<f<20 µm	Plancton 20 µm <f
25	17-12 13	Paso Guaraní medio	Plancton 150<f<65 µm	Plancton 65<f<20 µm	Plancton 20 µm <f
4	9-12-13	Ba. Ushuaia	Plancton 150<f<65 µm	Plancton 65<f<20 µm	Plancton 20 µm <f

Toxinas en bivalvos.

En puntos seleccionados (Tabla1) se tomaron un total de 14 muestras de aproximadamente 2 kg de mejillón (*Mytilus edulis)* y cholga (*Aulacomya atra*) para análisis de toxinas. Se tomaron muestras de mejillones de la balsa de cultivo situada en la entrada de Ba.A. Brown y de los bancos costeros naturales próximos a las estaciones de toma de muestra de fitoplancton y parámetros ambientales. Las muestras de cholga, fueron tomadas de bancos naturales situados en I. Upú (Tabla 1). Muestras adicionales de bivalvos (cholgas y mejillones) tomadas en I. de Los Estados y Ba. Buen Suceso por la SDSyA durante el período de la campaña, fueron también procesadas para obtener extractos para el análisis de toxinas, considerando la falta de información sobre toxinas en bivalvos de estos sitios. (Tabla3). Las muestras fueron refrigeradas y trasladadas al Laboratorio Ambiental para ser procesadas.

Con el objetivo de estudiar la evolución temporal de la toxicidad se analizaron muestras de mejillones y cholgas correspondientes a un período de 5 meses previos a la campaña. Las muestras fueron aportadas por Laboratorio Ambiental de la SDSyA y provinieron del monitoreo regular que este realiza en la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, (Tabla 3). Estas muestras fueron analizadas con el método oficial de bioensayo por ratones (A.O.A.C., 1984) en el Laboratorio Ambiental y también por HPLC en el INIDEP para la determinación y cuantificación de cada una de las toxinas análogas a la saxitoxina presentes y comparación de ambos métodos. Además se realizó el análisis de TAM por HPLC en todas las muestras de bivalvos proporcionadas.

Tabla 3. Muestras de bivalvos y extractos de toxinas obtenidos.para el análisis. TPM: Extracto para el análisis de Toxinas Paralizantes de Moluscos, TAM Extracto para el análisis de Toxina Amnésica de Moluscos. TLM Extracto para el análisis de Toxinas Lipofílicas de Moluscos. Fecha, lugar de recolección, número de registro interno del Laboratorio Ambiental de la SDSyA y de estación de la campaña Beagle-02/13 correspondiente.

Muestra	Estación	Fecha	Lugar de muestreo	Extracto
Mejillón				
193		29-07-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
215		12-08-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 45 Secretaría Legislativa

240		02-09-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
317		15-10-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
377		26-11-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
383		02-12-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
393	**6**	10-12-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
413	**22**	17-12-13	Ba. Brown (exterior) Balsa	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
408	**4**	09-12-13	Ba. Ushuaia	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
406	**2**	09-12-13	Ba. Ensenada	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
407	**3**	09-12-13	Ba. Golondrina	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
405	**1**	09-12-13	Ba. Lapataia	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
409		12-12-13	I. de los Estados	TPM: bioensayo y HPLC
		12-12-13	Ba. Buen suceso	TAM y TML
Cholga				
194		29-07-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
216		12-08-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
241		02-09-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
316		15-10-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
378		26-11-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
384		02-12-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
394	**17**	10-12-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML
414	**24**	17-12-13	Pta. Lápiz	TPM: bioensayo y HPLC, TAM y TML

En el Laboratorio Ambiental los bivalvos se limpiaron cuidadosamente con agua por fuera y por dentro para eliminar arenas y otros cuerpos extraños. Seguidamente, se separaron los tejidos de las valvas, se transfirieron a coladores y se dejaron escurrir durante cinco minutos antes de la homogeneización. El homogeneizado se dividió para obtener los diferentes extractos para el estudio de toxinas paralizantes, toxinas amnésicas y toxinas lipofílicas (Tabla 3).

Métodos de análisis de toxinas

Toxinas paralizantes de moluscos (TPM).

La extracción de TPM de los tejidos homogeneizado de las muestras se realizó con ácido clorhídrico 0,1 M a pH= 3 (5min a 100 °C), según el método oficial (A.O.A.C., 1984), tanto para el análisis por bioensayo con ratones como para el análisis por HPLC. Los extractos fueron congelados y almacenados en freezer hasta su transporte a Mar del Plata, en una caja contenedora a -21°C.

Bioensayo con ratones: Fue realizado en el laboratorio Ambiental según el método oficial aprobado por SENASA. Para cada muestra fueron inyectados tres ratones hembra, de peso aproximado de 20g y el cálculo de toxicidad fue realizado según el método oficial (A.O.A.C., 1984). La calibración para corregir unidades ratón a µg de STX equivalente se realizó con estándar de STX según el protocolo oficial

Análisis por HPLC: Dada la complejidad de la matriz biológica de las muestras analizadas fue necesario eliminar impurezas del extracto por pasaje a través de columnas Sep-pack C18 seguido de ultra-filtracción (10.000 Dalton Ultrafree-MC). Los extractos así tratados se analizaron por HPLC con derivatizacion post-columna y detección por fluorescencia siguiendo el método de Oshima (1995) con un equipo Shimadzu LC10A. Se realizaron dos análisis isocráticos independientes para determinar el grupo de las gonyautoxinas y el grupo de las saxitoxinas. Con el fin de descartar falsos positivos de TPM se realizó un análisis adicional omitiendo el agregado de oxidante en el reactor post-columna lo que permite detectar impurezas auto-fluorescentes. Se utilizaron estándares de las toxinas adquiridas en el National Research Council Canadá (CNRC-NRC). La toxicidad total fue calculada en base a las toxicidades específicas determinadas por Oshima (1995). En el texto se utilizan las siguientes

abreviaturas: Gonyautoxinas 4, 2, 3, y 1 = GTX4, GTX2, GTX3, GTX1 respectivamente, neosaxitoxina= neoSTX, y saxitoxina = STX.

Toxinas amnésicas de moluscos (TAM).

La extracción de TAM de los tejidos homogeneizados de las muestras se realizó con alcohol metílico 50 % para el análisis por HPLC con detección por espectrofotómetría con arreglo de diodos, según el método de Wright et al., (1995). Los extractos fueron congelados y almacenados en freezer hasta su transporte a Mar del Plata, en una caja contenedora con gel de -21°C. Previo al análisis las muestras fueron centrifugadas y filtradas con filtro Wathman GF/F.

Toxinas lipofílicas de moluscos (TLM).

La extracción de TLM de los tejidos homogeneizados de las muestras se realizó con alcohol metílico 100 % para el análisis por HPLC con detección por espectrometría de masas según el método oficial de la Unión Europea (EU-RL-MB, 2015). Por encontrarse el detector de espectrometría de masa fuera de servicio por una avería, estas muestras no pudieron ser analizadas.

Bolsas SPATT (solid phase adsorption toxin tracking)

La técnica de Solid Phase Adsorption Toxin Tracking (SPATT) consiste en la absorción pasiva en una resina porosa sintética, contenida en bolsas permeables, de las toxinas disueltas en el agua de mar para su posterior extracción y análisis (Mackenzie et al., 2004). El método se basa en la observación de que durante la proliferación de algas nocivas, cantidades significativas de toxinas se disuelven en el agua y pueden ser detectadas. El tiempo de muestreo integrado proporciona una buena simulación de la acumulación de toxinas por los bivalvos, sin los problemas analíticos asociados al efecto matriz de la materia orgánica y a las transformaciones enzimáticas o metabólicas producidas en los tejidos de los moluscos.

Con el fin de evaluar el empleo de sistemas pasivos de muestreo de toxinas para monitorear los niveles de toxicidad en los cultivos de mejillón, se realizó un ensayo de fijación de bolsas SPATTen la balsa de cultivo situada en la entrada de Ba. A. Brown.

Las bolsas SPATT fueron diseñadas y construidas en el INIDEP, para ser fijadas bajo la superficie en las cuerdas de la balsa mejillonera. Se realizaron varias pruebas hasta lograr el diseño que mejor se adaptó a las condiciones de mar del canal (Fig. 4). Las bolsas fueron construidas con mallas de nylon de 70 µm de abertura, prensadas por un marco acrílico circular de 6 cm. de diámetro. En cada bolsa se colocaron 2 g de resina DIAION HP-20 (*Mitsubishi Chemical Corporation*), activada con metanol y agua destilada. Las bolsas SPATT fueron protegidas dentro de un marco de PVC. Los marcos fueron fijados a las cuerdas de cultivo en dos profundidades, 2 y 10 m (2 bolsas en cada profundidad) (Tabla 2). Se mantuvieron sumergidas durante un período de 7 días, para luego ser recambiadas por nuevas bolsas. El primer grupo de bolsas SPATT fue instalado a fines de septiembre de 2013, y se continuó la experiencia hasta mediados de enero de 2014. Luego de ser retiradas de las cuerdas, las bolsas se conservaron en frio (-21°C) hasta llegar al Laboratorio Ambiental, donde fueron lavadas con agua destilada para eliminar sales. La extracción de toxinas de la resina se realizó con metanol 100 % (MacKenzie et al., 2004). Una alícuota del extracto se conservó a -21°C para el posterior análisis de toxinas lipofílicas por HPLC-MS en el INIDEP. No obstante, debido a que el detector de espectrometría de masa se encuentra fuera de servicio por un desperfecto, estas muestras no pudieron ser analizadas.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 46 Secretaría Legislativa

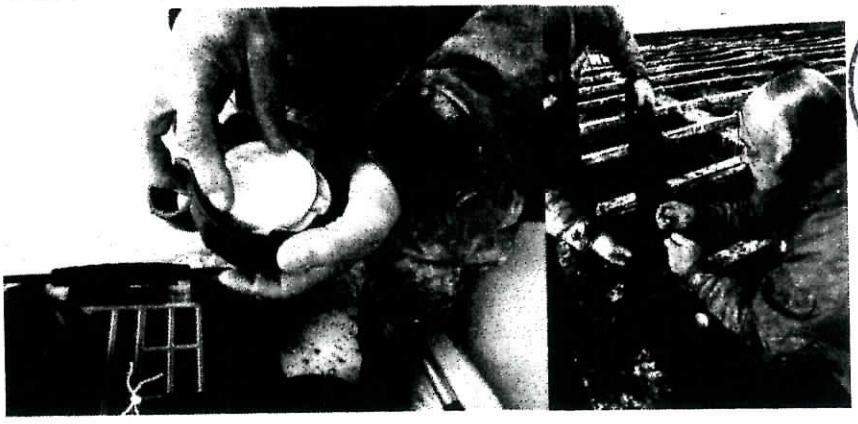


Figura 4. Armado y fijación de las bolsas SPATT en las cuerdas de cultivo de mejillones de la balsa.

Resultados obtenidos en la campaña Beagle-02/13.

Parámetros ambientales.

En Ba. A. Brown y su sistema de drenaje se realizaron 14 perfiles de CTD para conocer la distribución vertical y horizontal de la temperatura, salinidad y densidad en el área (Fig. 5). Tres de ellos se ubicaron en la boca de la bahía (estaciones **5, 6** y **7**), tres en el sector medio (estaciones **8, 9** y **10**) y tres en el sector interno (estaciones **11, 12** y **13**). De los restantes, dos perfiles se ubicaron entre I. Upú e I. Waru (estaciones **17** y **18**) y tres en el Paso Guaraní Medio (estaciones **14, 15** y **16**).

Se determinó una profundidad máxima entre 24 m, en la entradà de Ba. A. Brown (estaciones **6** y **7**), y 1,5 m en el paso R. Guaraní medio (estación **14**). La temperatura superficial presentó un rango entre 7,19 °C (estación **10**) y 8,96 °C (estación **14**), y la temperatura sobre el fondo entre 6,82 °C (estación **8**) y 8, 94°C (estación **14**). La salinidad superficial mostró un rango entre 29,5 (estación **5**) y 30,67 (estación **10**), y la salinidad en el fondo entre 30,78 (estación **6**) y 30,17 (estación **14**). (Tabla 4, ANEXO 1)

Tabla4. Profundidad máxima, temperatura y salinidad de superficie y fondo de las estaciones realizadas el 10-12-13 en Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

Estación	Prof. max. (m)	Temp. sup (°C)	Temp. fdo. (°C)	Sal. sup.	Sal. fdo.
5	22	7,41	6,83	29,75	30,75
6	24	7,44	6,83	30,24	30,78
7	24	7,20	6,83	30,65	30,77
8	20	7,43	6,82	30,43	30,75
9	22	7,31	6,83	30,57	30,74
10	18	7,19	7,03	30,67	30,69
11	22	7,69	6,84	30,32	30,70
12	15	7,62	6,91	30,43	30,62
13	14	7,64	6,89	30,45	30,64
14	1,5	8,96	8,94	30,16	30,17
15	3,5	8,81	8,75	30,22	30,25
16	5	8,46	8,47	30,25	30,27
17	7	8,53	8,48	30,15	30,32
18	7	8,30	8,33	30,34	30,35

La distribución superficial de temperatura mostró un incremento gradual hacia el interior de la bahía (Fig. 5 a). La menor temperatura (7,19 °C) se registró en la entrada, en el sector adyacente a I. Gable; relacionada al ingreso de agua proveniente del flujo principal del canal. En el sector interior de la bahía se registró una temperatura de 7,68 °C en las proximidades de Ba. A. Brown. En el paso R. Guaraní se registraron temperaturas mayores de 8 °C, formando un gradiente térmico con el agua de la bahía a nivel de la I. Upú. Hacia el interior del paso (Guaraní medio) la temperatura alcanzó 8,9 °C, en correspondencia con la mínima profundidad del área (1,5 m).

La distribución superficial de salinidad mostró un gradiente muy marcado en la zona externa de la bahía, donde se registró la menor salinidad superficial (29,74) en el sector costero aledaño a Pta. Almanza, debida al aporte del río Almanza que desemboca en la bahía a corta distancia de la estación 5 (Fig. 5 b). Inversamente, sobre el margen opuesto (I. Gable) se registró la mayor salinidad del área (30,67) relacionada a el agua externa del canal. A partir de este sector externo, la salinidad disminuyó gradualmente hacia el interior de la bahía (30,31) y hacia el paso R. Guaraní, donde se registraron salinidades alrededor de 30,2.

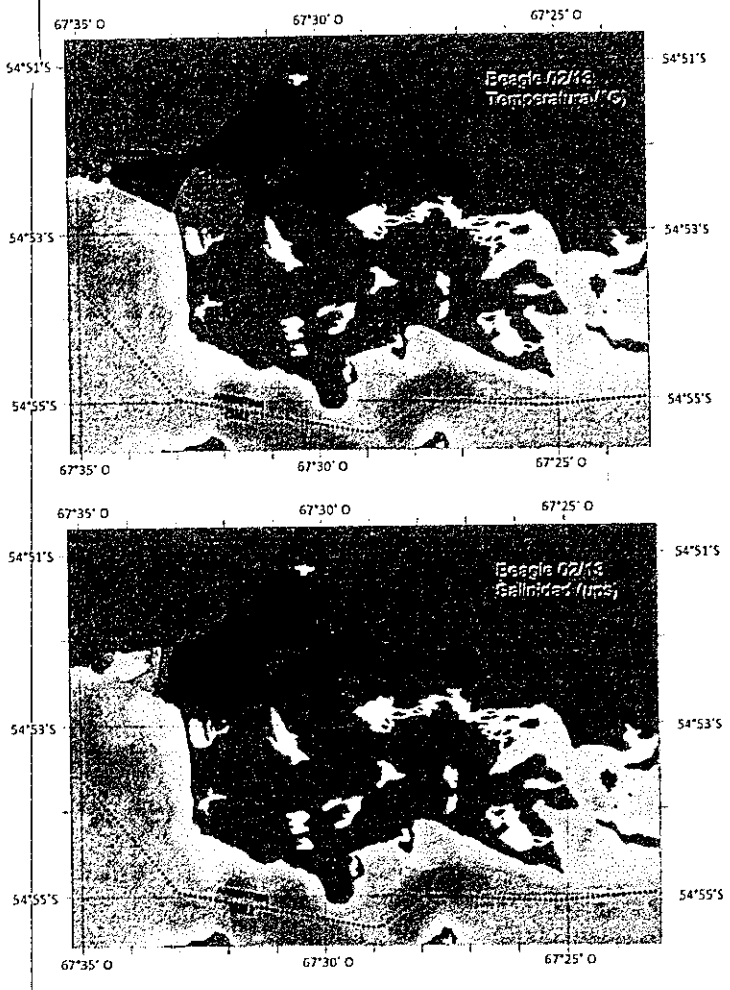


Figura5. Distribución horizontal de temperatura (°C) y salinidad superficial en el área de Ba. A. Brown y su sistema de drenaje durante la campaña Beagle 02/13.

ES COPIA FIEL
FOLIO
Nº 47
Secretaría Legislativa

La distribución vertical de los parámetros ambientales mostró que la capa superficial de baja salinidad, registrada en la entrada de la bahía, ocupó los primeros 1,5 metros de profundidad en la estación **5** (Fig. 6). La baja salinidad del agua (29,75) determinó la menor densidad de esta capa (23,2 kgm^{-3}), formando una marcada picnoclina (0,25 kgm^{-3}) con el agua más profunda, con una densidad entre 23,6 kgm^{-3} y 23,9 kgm^{-3} sobre el fondo. Esta capa superficial de menor densidad se manifestó débilmente en el registro térmico, definida por una leve termoclina (0,1 °C/m).

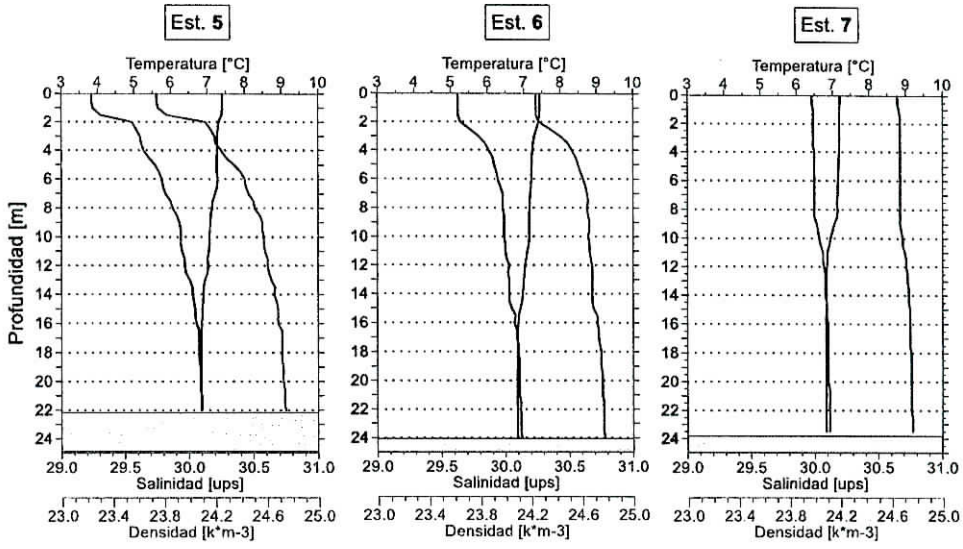


Figura 6. Distribución vertical de temperatura (°C) y salinidad y densidad (kgm^{-3}) en las estaciones **5**, **6** y **7** realizadas en Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

Debajo de esta se observó una disminución gradual de la temperatura con la profundidad (entre 7,4 °C y 7,0 °C) hasta los 16 metros. A partir de esta profundidad se observó una capa de mayor densidad (24,06 kgm^{-3}) donde la temperatura y la salinidad se mantuvieron casi constantes hasta en fondo (temperatura: 6,8 °C, salinidad: 30,71). Hacia la zona media de la entrada (estación **6**) la señal de baja salinidad superficial se vio debilitada (30,24), incrementándose la densidad de la capa superficial (23,61 kgm^{-3}); y atenuada completamente (30,65) en el margen opuesto (I. Gable) (estación **7**). En esta estación, se diferenció una capa de mezcla superficial hasta los 9,5 m de profundidad, definida principalmente por la temperatura y con menor intensidad por la salinidad. La capa de mezcla presentó una salinidad de 30,66 y una temperatura de 7,2 °C, separada por una leve termoclina (0,1 $°Cm^{-1}$) de la capa de fondo (salinidad: 30,75 , temperatura: 6,8 °C); que a diferencia de las estaciones anteriores, se registró a partir de los 12 m de profundidad.

En la zona central de la bahía, la señal de baja salinidad superficial registrada en la estación **5** se encontró también atenuada en la estación más cercana a la costa de Pto. Almanza (estación **8**), con valores de 30,42 hasta 3,5 m de profundidad. No obstante, el perfil de salinidad en esta estación mostró dos haloclinas. La primera se localizó entre los 3,5 m y 7 m de profundidad, asociada a la capa superficial de baja salinidad proveniente de la desembocadura del río Almanza. La segunda haloclina se registró a los 17 m, separando el agua de profundidad intermedia de una capa de fondo de mayor salinidad (> 30,7), la cual se encontró definida en el registro térmico por una leve termoclina, a 17 m de profundidad (Fig. 7) y 3,5 m sobre el fondo.

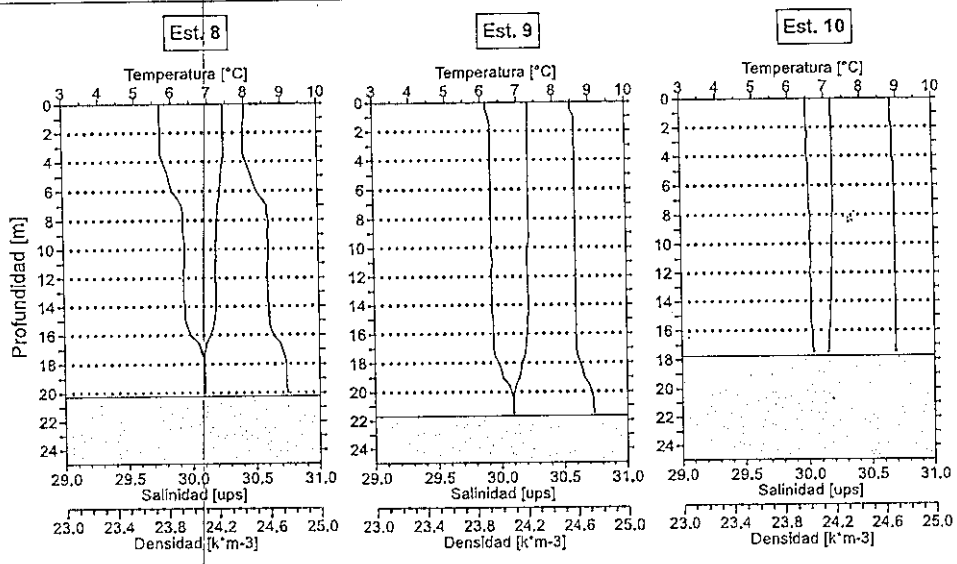


Figura 7. Distribución vertical de temperatura (°C) y salinidad y densidad (kgm^{-3}) en las estaciones 8, 9 y 10 realizadas en Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

En la estación central (estación 9), la señal de baja salinidad superficial se manifestó débilmente hasta 0,5 m y la capa de fondo, de mayor densidad, fue registrada a partir de 18 m; con un espesor de 2 m sobre el fondo. En la estación **10**, próxima a la costa de la I. Gable, los parámetros ambientales mostraron una completa homogeneidad vertical (salinidad: 30,68, temperatura: 7,1 °C) (Fig. 7).

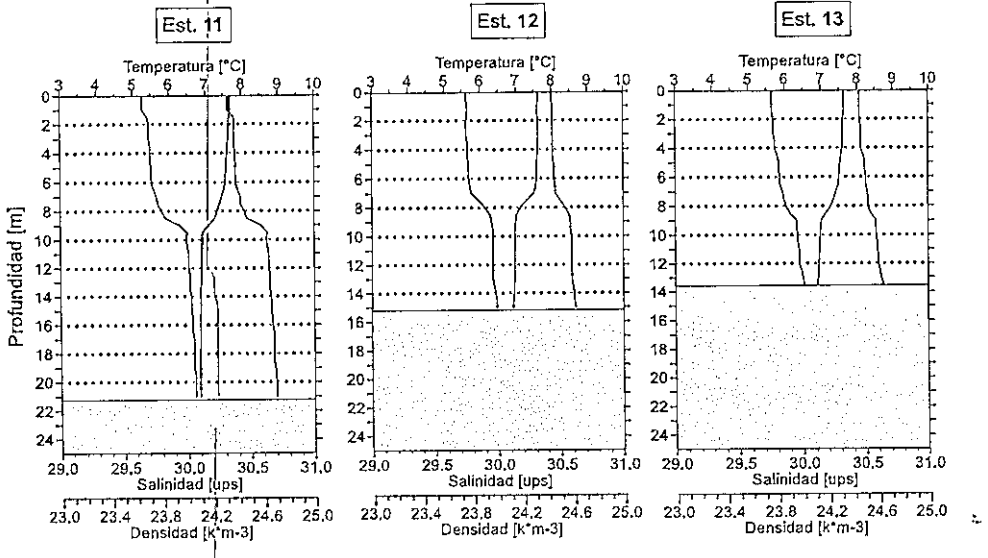


Figura 8. Distribución vertical de temperatura (°C), salinidad y densidad (kgm^{-3}) en las estaciones **11**, **12** y **13** realizadas en Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

En el sector interior de la bahía (estaciones **11**, **12** y **13**) la circulación más restringida posibilitó el desarrollo de una capa de mezcla superficial más definida por la menor salinidad (30,31) y mayor temperatura (7,6 °C); y limitada por una termoclina a 9 m de profundidad (0,3 $°Cm^{-1}$). (Fig.8). En la estación **11**, próxima a Ba. A. Brown, la distribución vertical de salinidad mostró una leve disminución

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
Poder Legislativo
FOLIO
Nº 48
Secretaría Legislativa

(30,31) en el primer metro superficial, probablemente debida al aporte de agua de deshielo producido por los arroyos y chorrillos que desembocan en la costa.

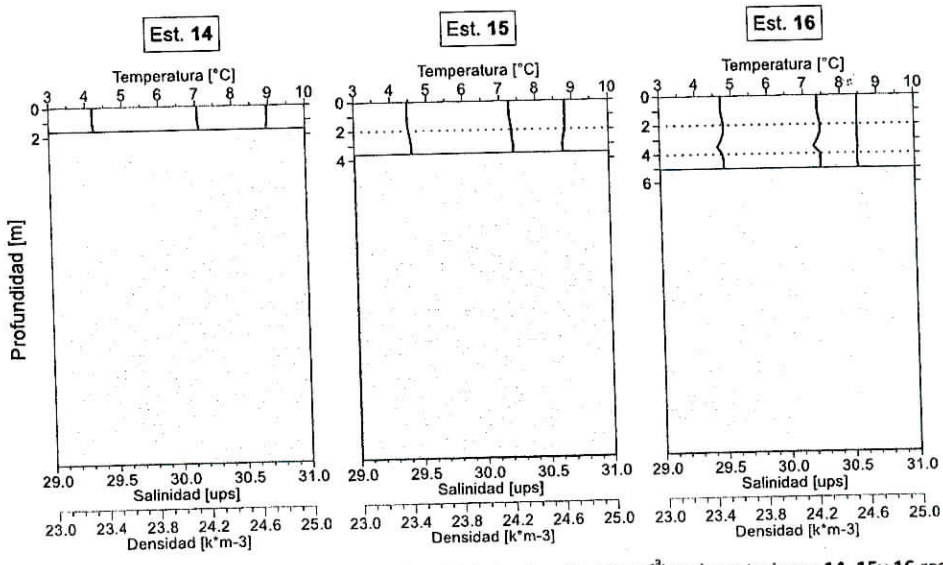


Figura 9. Distribución vertical de temperatura (°C), salinidad y densidad (kgm^{-3}) en las estaciones **14**, **15**y **16** realizadas en Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

Los perfiles realizados en el Paso Remolcador Guaraní mostraron una completa mezcla vertical, estaciones **14, 15, 16** y **18** (Fig. 9 y 10) debida a la baja profundidad; excepto el correspondiente a la estación **17** (Fig. 10), próxima a la Punta Lápiz, donde se observó una leve disminución de la salinidad superficial, similar a la observada en la estación **11**. Las temperaturas registradas en todo este sector fueron mayores de 8,0 °C. Las mediciones realizadas en el Paso Guaraní Medio se caracterizaron además por la menor densidad del agua, determinada principalmente por la mayor temperatura; con un máximo de 8,9 °C en la estación de más baja profundidad (estación **14**) (Fig. 9).

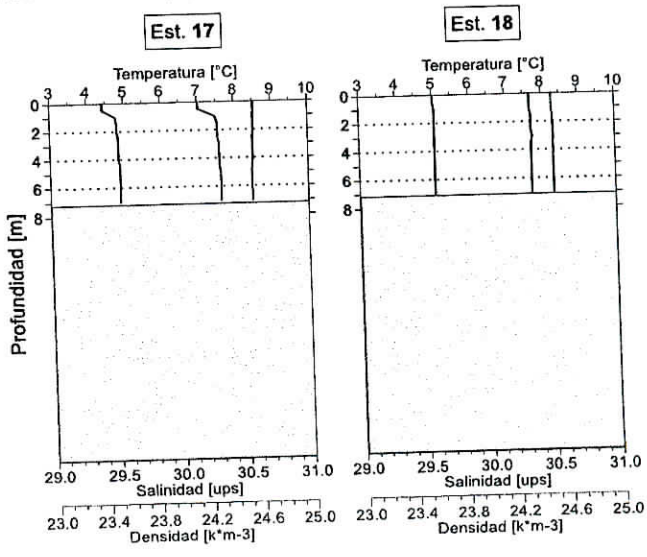


Figura 10. Distribución vertical de temperatura (°C), salinidad y densidad (kgm^{-3}) en las estaciones **17** y **18** realizadas en Ba. A. Brown durante la campaña Beagle 02/13.

Nutrientes inorgánicos.

Se obtuvieron muestras de agua superficial de la entrada de Ba. A. Brown y en el Paso R. Guaraní medio (estaciones **6** y **14**) para la determinación de los nutrientes inorgánicos disueltos; y en Ba. Ushuaia (estación **4**) para comparar los valores encontrados en el sector medio del canal con los obtenidos dentro la Ba. A. Brown. En las estaciones de Ba. A. Brown el muestreo se repitió una semana más tarde (estaciones **22** y **25**).

Tabla 5 . Concentración de nutrientes inorgánicos disueltos en superficie en las estaciones realizadas en la campaña Beagle-02/13.

Estación	Lugar	Fecha	Nitrato (µM)	Nitrito (µM)	Fosfato (µM)	Silicato (µM)
4	Ba.Ushuaia (Playa Larga)	10-12-13	5,42	1,27	0,27	27,76
6	Ba. A. Brown (entrada)	10-12-13	11,21	1,99	0,2	32,15
22	Ba. A. Brown (entrada)	17-12-13	0,56	1,36	0,1	10,7
14	P. Guaraní medio	10-12-13	8,76	1,01	0,19	23,39
25	P. Guaraní medio	17-12-13	1,74	1,58	0,12	13,78

En forma general se observó una alta concentración de silicato en todas las muestras analizadas (> 10,7 µM), producidas por el aporte de aguas de deshielo continental a través de los ríos y chorrillos que desembocan en la costa del canal. El fosfato presentó bajas concentraciones (< 0,2 µM), y escasa variabilidad entre estaciones y en el tiempo. Esta escasa variabilidad es también común para el nitrito. La Ba. A. Brown presento los valores máximos y mínimos de nitrato registrados (11.21 µM y 0.56 µM) mostrando una brusca disminución en el tiempo, propiedad compartida con el paso Guaraní (Tabla 5). Este marcado descenso en la concentración de nitrato, probablemente tenga su explicación en el consumo de este macronutriente generado por el crecimiento del fitoplancton del área.

Análisis de fitoplancton

En las muestras tomadas en la campaña Beagle 02/13 se identificó un total de 64 especies de fitoplancton, pertenecientes a los grupos de Diatomeas, Dinoflagelados, Silicoflagelados, Cryptophytas, Prasinophytas, y Cyanoprocariotas (Tabla 6).

Los recuentos celulares mostraron una dominancia casi completa de las diatomeas en las muestras obtenidas en el área de Ba. A. Brown el día 10 de diciembre, con una abundancia relativa de 98,8 %. El resto de los grupos observados presentaron una muy baja abundancia relativa, con niveles menores de 1%; excepto en la muestra colectada en el Paso Guaraní Medio, donde las Prasinophytas mostraron una abundancia relativa de 1,8 %.

En las muestras colectadas en el área de Ba. A. Brown una semana después (17 de diciembre) las diatomeas también mostraron una dominancia muy marcada dentro de la comunidad fitoplanctónica, con una abundancia relativa alrededor del 98 % en la entrada de la bahía y en el Paso Guaraní Medio; que disminuyó marcadamente en el interior de la bahía (84,1 %) debido a una población de una Cyanoprocariota solitaria, *Synechocystis cf. salina*que alcanzó una abundancia relativa de 15,2 %. A pesar de esta abundancia relativa de células, el reducido tamaño de *Synechocystis* (2,5 µm de diámetro) determinó que, en términos de biomasa, su abundancia fue poco significativa. En la muestra tomada en la estación contigua (Punta Lápiz) la comunidad fitoplanctónica presentó una estructura similar, con una abundancia relativa de diatomeas de 86,1 % y de *Synechocystis* de 12,7 %. La concentración celular de *Synechocystis* en el plancton disminuyó marcadamente en la muestra tomada en el Paso Guaraní Medio (abundancia relativa 0,8 %), donde las diatomeas dominaron completamente la comunidad (98,1 %) (Tabla 6).

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
FOLIO Nº 49
Secretaría Legislativa

Tabla 6. Porcentajes de abundancia relativa de los diferentes grupos de fitoplancton en las muestras colectadas

Grupos	Est. 6 B.Brown (e)	Est.11 B.Brown(i)	Est. 17 P. Lápiz	Est.14 Guaraní M	Est.22 B.Brown(e)	Est. 23 B.Brown(i)	Est. 24 P. Lápiz	Est. 25 Guaraní M	Est. 1 B.Lapataia	Est. 19 I. de los Pájaros	Est. 20 Puerto Karelo
Diatomeas	98,6	99,3	99,5	98,0	97,6	84,1	86,2	98,1	0,1	51,7	55,2
Dinoflagelados	0,4	0,1	0,1	0,2	0,5	0,2	0,7	0,4	0,0	0,0	0,2
Cryptophytas	0,2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
Prasinophytas	0,9	0,4	0,3	1,8	1,1	0,5	0,4	0,7	0,0	0,0	0,0
Silicoflagelados	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cyanoprocariotas	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	15,2	12,7	0,8	99,9	48,2	44,3

En las muestras colectadas en la Ba. Lapataia las células Cyanoprocariotas alcanzaron una abundancia relativa de 99,9 %, ominando totalmente la comunidad fitoplanctónica; que solo mostró una incidencia extremadamente baja de diatomeas (0,1 %). En las muestras tomadas en el área de Ba. Ushuaia la dominancia de la comunidad fitoplanctónica estuvo compartida entre ambos grupos. Las diatomeas alcanzaron una dominancia relativa de 55,2 % en Puerto Karelo y 51,7 % en la I. de los Pájaros, y las Cyanoprocariotas de 44,3 % y 48,2 % respectivamente (Tabla 6).

Tabla 7. Recuentos celulares por especie en las muestras de fitoplancton (celL^{-1}).

Diatomeas	Est. 6 B.Brown (e)	Est.11 B.Brown(i)	Est. 17 P. Lápiz	Est.14 Guaraní M	Est.22 B.Brown(e)	Est. 23 B.Brown(i)	Est. 24 P. Lápiz	Est. 25 Guaraní M	Est. 1 B.Lapataia	Est. 19 I. de los Pájaros	Est. 20 Puerto Karelo
Amphora sp.						40					
Chaetoceros decipiens	1.204.708	347.140	189.906	113.331	153.150	441.072	32.065	30.630		79.638	89.848
Chaetoceros lorenzianus	147.024	241.977	73.512	16.336	4.440	154.381	119.457	8.712		148.045	148.045
Chaetoceros similis	21.441	12.252	8.168	31.651	3.200	12.252	7.147	30.630		1.432	
Chaetoceros diadema	120	240	200	2.042	600	480	800	0		600	600
Chaetoceros socialis	856.530	1.625.565	1.611.750	1.685.430	396.148	1.138.970	471.245	980		527.857	259.334
Chaetoceros cf. convolutus										480	
Corethron kriophyllum	80				280						
Corethron histrix			1.240		200	760	840	1.720			80
Coscinodiscus radiatus	720	120	40		320		520		40		1.960
Coscinodiscus sp.	40	40	240	80	560	120	240	280	400		
Ceratoneis closterium			3.063	8.168		6.140		13.431			1.021
Cerataulina pelágica	12.252	16.336	4.000	1.720	4.680	1.080	4.040	968	320	9.189	10.210
Fragilaria sp.	1.520			360	160						6.520
Guinardia delicatula						400					
Haslea sp.	240	1.320	520	320	7.160						
Leptocylindrus danicus	11.231	3.200	1.340	1.000	33.693	30.630	2.828	43.903		1.936	
Leptocylindrus minimus					82.701		4.598	65.344			
Lycmophora sp	1.021				40						
Navicula sp.									1.021		
Thalassiothrix sp.									4.800		
Pleurosigma normanii									40		
Pseudo-nitzschia spp.	46.525	102.378	40.840	40.840	26.546	136.387	17.511	9.425		15.050	6.574
Rhizosolenia setigera	120	80	40	1.040	480	200	600	160		280	760
Skeletonema costatum	19.399			14.294	15.315	10.210	968	8.168			13.273
Stephanopixis turris										1.021	80
Sriatella unipunctata	3.146	2.042	1.021		13.273	198.074	193.990	225.641		28.588	
Thalassiosira sp.		80	240	1.120	6.126	40					
Thalassionema nitzschioides									2.042		

Total diatomeas	2.322.273	2.350.690	1.936.120	1.917.772	749.392	2.124.636	850.569	434.152	8.663	809.276	533.425
Dinoflagelados											
Alexandrium ostenfeldii	120	80			80	320	240	200		40	
Anphidinium carterae		80									
Gymnodinium spp.	240	240		40	320	120		560			
Gyrodinium fusus	280	360	320	160	600	80	200	400		40	40
Gyrodinium sp.	640	880	880	1.520	200	320	200	680		40	120
Oxytoxum sp.	160	680	200	1.021		200	160				
Prorocentrum lima	1.021			1.021				40			
Prorocentrum compressum					80						
Prorocentrum minimum	7.147	200			120	2.042	4.084				1.694
Protoperidinium cuspidatum		120		1.021	960	1.021	1.021	160		40	
Protoperidinium metananum						240	760	40			40
Protoperidinium nudum										160	200
Protoperidinium simulum					80		80	160			200
Protoperidinium sp.					1.080	240					
Scrippsiella patagonica					1.021	80					
Total Dinoflagelados	9.608	2.640	1.400	4.783	4.541	4.663	6.745	2.240	0	320	2.294
Cyanoprocariotas											
Synechocystis cf. salina					5.105	389.890	127.205	3.825	13.323.800	759.825	432.870
Total Cyanoprocariotas					5.105	389.890	127.205	3.825	13.323.800	759.825	432.870
Cryptophytas											
Cryptomnadales	3.721	4.200	1.560			2.042			3.063	1.089	1.880
Total Cryptophytas	3.721	4.200	1.560			2.042			3.063	1.089	1.880
Silicoflagelados											
Dictiocha speculum				640		40					
Total Silicoflagelados				640		40					
Prasinophytas											
Tetraselmis sp.	1021						1021				
Pyramimonas sp.	19.399	10.210	6.126	34.714	9.189	12.252	3.063	3.063			
Total Prasinophytas	20.420	10.210	6.126	34.714	9.189	12.252	4.084	3.063			
Ciliophora											
Myrionecta rubra					3.240	26.520	5.440	960		80	800

Los recuentos celulares mostraron que la alta dominancia de diatomeas observada en las muestras tomadas el día 10 de diciembre en el área de Ba. A. Brown estuvo representada principalmente por cuatro especies del género Chaetoceros: *C. socialis*, *C. decipiens*, *C. lorenzianus* y *C. similis*. En la entrada de la Ba. A. Brown, *C. decipiens* alcanzó una densidad celular de 1,2 x 10^6 $cell^{-1}$, seguida por *C. socialis* con 8,6 x 10^5 $cell^{-1}$, *C. lorenzianus* (1,5 x 10^5 $cell^{-1}$) y *C. similis* (2,1 x 10^4 $cell^{-1}$). Tanto en el interior de la bahía como en las muestras tomadas en Punta Lápiz y en el Paso Guaraní Medio, la mayor dominancia estuvo representada por *C. socialis*, con una densidad celular máxima de 1,6 x 10^6 $cell^{-1}$; mientras que *C. decipiens* presentó densidades entre 3,5 x 10^5 $cell^{-1}$ y 1,1 x 10^5 $cell^{-1}$, *C. lorenzianus* entre 2,4 x 10^5 $cell^{-1}$ y 7,4 x 10^4 $cell^{-1}$ y *C. similis* entre 3,2 x 10^4 $cell^{-1}$ y 8,2 x 10^4 $cell^{-1}$. El resto de las especies de diatomeas presentes en las muestras presentaron densidades menores que 1 x 10^4 $cell^{-1}$, excepto Leptocylindrus minimum, que mostró una densidad algo mayor en la entrada de la bahía

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
FOLIO
Nº 50
Secretaría Legislativa

Brown (1,1 x 10^4 $cell^{-1}$, y *Cerataulina pelágica* en la entrada y el interior de la misma (1,2 x 10^3 $cell^{-1}$ y 1,6 x 10^4 $cell^{-1}$ respectivamente) (Tabla 7).

En el resto de los grupos fitoplanctónicos solo se observó una densidad significativa de Prasinophytas en la entrada e interior de la bahía Brown, principalmente representadas por *Pyramimonas sp.*, con densidades celulares entre 3,5 x 10^4 $cell^{-1}$ y 6,1 x 10^4 $cell^{-1}$. Entre las especies tóxicas o potencialmente tóxicas de fitoplancton solo se registró una muy baja densidad de los dinoflagelados *Alexandrium ostenfeldii* y *Prorocentrum minimum* en la entrada e interior de la bahía, con densidades máximas de 120 $cell^{-1}$ y 7.147 $cell^{-1}$ respectivamente); y *Prorocentrum lima* en la entrada de la bahía y en el Paso Guaraní Medio, con una densidad de 1.021 $cell^{-1}$. También se registraron densidades significativas de las diatomeas *Pseudo-nitzschia spp.*, potencialmente productoras de toxina amnésica de moluscos (TAM), con una densidad máxima de 1,0 x 10^5 $cell^{-1}$ en el interior de la bahía. No obstante, debe considerarse que esta densidad celular incluye cuatro especies co-genéricas, cuyas densidades específicas serán discriminadas después de completar la identificación de las mismas.

En las muestras cuantitativas tomadas el día 17 de diciembre en la Ba. A. Brown, la marcada dominancia de diatomeas estuvo también representada por las especies de Chaetoceros antes mencionadas, observándose una disminución en sus densidades máximas. Tanto en la entrada de la bahía como en su interior y Punta Lápiz las mayores densidades celulares correspondieron a *C. socialis*, cuya máxima densidad se registró en la zona interior (1,1 x 10^6 $cell^{-1}$); seguida por *C. decipiens*, con una densidad máxima de 4,4 x 10^5 $cell^{-1}$. En la muestra tomada en Punta Lápiz la dominancia de *C. socialis* fue seguida por *C. lorenzianus*, con una densidad de 1,2 x 10^5 $cell^{-1}$. En el Paso Guaraní Medio, *C. decipiens* y *C. similis* compartieron la dominancia de la comunidad fitoplanctónica, presentando una densidad máxima de 3,1 x 10^4 $cell^{-1}$. También se observó un aumento significativo en la densidad celular de la diatomea *Striatella unipunctata*, principalmente en Punta Lápiz y el Paso Guaraní Medio, donde alcanzó un máximo de 2,3x 10^5 $cell^{-1}$, y de *Leptocylindus danicus* con un máximo de 2.3 x 10^5 $cell^{-1}$ en este último sitio de muestreo. La diatomea *Leptocylindrus minimus* también mostró un incremento de densidad, con un máximo de 2,3 x 10^5 $cell^{-1}$ en el Paso Guaraní Medio. La Prasinophyta *Pyramimonas sp.* presentó una disminución de densidad, principalmente en las muestras colectadas en la entrada de la bahía y en el Paso Guaraní Medio. Considerando las especies tóxicas potencialmente tóxicas de fitoplancton se observó la presencia de *Alexandrium ostenfeldii* en toda el área, aunque con muy baja densidad. La máxima densidad (320 $cell^{-1}$) se registró en el interior de la bahía, disminuyendo hacia la entrada (80 $cell^{-1}$) y hacia el Paso Guaraní Medio, donde alcanzó 200 $cell^{-1}$. *Prorocentrum lima* solo fue registrado en el Paso Guaraní Medio (40 $cell^{-1}$) y *Prorocentrum minimum* presentó mayores densidades en el interior de la bahía y Punta Lápiz, donde alcanzó 4084 $cell^{-1}$. Las especies del género Pseudo-nitzchia presentaron densidades similares a las registradas en las muestras tomadas el día 10 de diciembre, con una leve disminución en el Paso Guaraní Medio (9,4 x 10^3 $cell^{-1}$) (Tabla 7).

Otras diferencias significativas registradas en el muestreo realizado el día 17 respecto al de la semana anterior fueron la detección de *Synechocystis cf. salina*, cuyas mayores densidades se ubicaron en el interior de la bahía y Punta Lápiz (3,9 x 10^5 $cell^{-1}$); y el desarrollo de una población del ciliado *Myrionecta rubra* en toda el área de Ba. A. Brown, con una densidad máxima de 2,7 x 10^4 $cell^{-1}$ en el interior de la bahía. Si bien *Myrionecta rubra* no pertenece a la comunidad fitoplanctónica, fue considerado en los recuentos celulares debido a que es un ciliado fotosintético con plástidos endosimbióticos, directamente relacionado a varias especies tóxicas del genero Dinophysis por constituir una presa indispensable para su crecimiento (Nagai et al., 2008).

En las muestras tomadas el día 13 de diciembre frente a la Ba. Ushuaia, en las proximidades de las Is. Warden (I. de los Pájaros) y Bridges (Puerto Karelo) se registró también una dominancia de diatomeas, caracterizada por altas densidades de especies del genero Chaetoceros, pero se observó también una alta densidad de *Synechocystis*, numéricamente equivalente a la de diatomeas.

Las mayores densidades de diatomeas correspondieron a *C. socialis*, entre 5,3 x 10^5 $cell^{-1}$ y 5,3 x 10^5 $cell^{-1}$, seguidas por *C. lorenzianus* con 1,5 x 10^5 $cell^{-1}$ y *C. decipiens* con 9,0 x 10^4 $cell^{-1}$. También

abundantes pero con menor densidad se registraron las diatomeas *Striatella unipunctata* (2,9 x 10^4 $cell^{-1}$) y *Skeletonema costatum* (1,3 x 10^4 $cell^{-1}$). Las células Cyanoprocariotas presentaron concentraciones entre 7,6 x 10^5 $cell^{-1}$ y 4,3 x 10^5 $cell^{-1}$. Otros grupos de fitoplancton se vieron poco representados, excepto las Cryptophytas que presentaron densidades entre 1,9 x 10^3 $cell^{-1}$ y 1,1 x 10^3 $cell^{-1}$. El número de especies de dinoflagelados disminuyó respecto al área de Ba. A. Brown, y las especies potencialmente nocivas estuvieron escasamente representadas solo por *Alexandrium ostenfeldii* (40 $cell^{-1}$) y *Prorocentrum minimum* (1.694 $cell^{-1}$). *Pseudo-nitzschia spp.* también presentaron densidades algo menores que en Ba. A. Brown, entre 1,5 x 10^4 $cell^{-1}$ y 6,6 x 10^3 $cell^{-1}$, así como el ciliado *Myrionecta rubra que* solo mostró densidades entre 800 $cell^{-1}$ y 80 $cell^{-1}$.

La muestra colectada el día 9 de diciembre en el interior de Ba. Lapataia presentó una composición específica muy diferente a la observada en el área de Ba. A. Brown y en las islas frente a Ba. Ushuaia. En este sitio de muestreo la comunidad fitoplanctónica estuvo compuesta casi exclusivamente por *Synechocystis* que alcanzó una densidad de 1,3 x 10^7 $cell^{-1}$. Se observó' una muy baja incidencia de diatomeas, caracterizada principalmente por *Thalassionema nitzschioides* (2.042 $cell^{-1}$), *Thalassiotrix sp.* (4.800 $cell^{-1}$) y *Navicula sp.* (1.021 $cell^{-1}$); y una ausencia completa de dinoflagelados. También se registró baja presencia de cryptomonadales, con una densidad de 3.063 $cell^{-1}$ (Tabla 7).

Análisis de pigmentos

Se identificaron 15 diferentes pigmentos en las 4 muestras analizadas, cuya concentración se presenta en la Tabla 8. Las mayores concentraciones de clorofila *a* (5,298 μgl^{-1}) se hallaron en las muestras tomadas el 17 de diciembre en la entrada de Ba. A. Brown, donde se encuentra la balsa mejillonera (Fig. 11). Esta biomasa fitoplanctónica se corresponde con la mayor concentración de diatomeas, por lo que también coincide con la mayor concentración de fucoxantina (2.11 μgl^{-1}), principal carotenoide en todas las muestras analizadas. Otros pigmentos marcadores de grupos fitoplanctónicos fueron hallados en menor proporción. Peridinina, marcador de dinoflagelados, solo fue detectado en Ba. A. Brown el 17 de diciembre, mientras que 19'- hexanoiloxifucoxantina (Hex-fuco), marcador de Haptophytas, fue detectado únicamente en P. Guaraní medio el 10 de diciembre. Clorofila *b*, pigmento presente en algas verdes, fue hallado en todas las muestras menos en Ba. Ushuaia, que presentó una baja diversidad pigmentaria. Zeaxantina, presente principalmente en Cyanoprocariotas, solo fue hallado en P. Guaraní Medio el 10 de diciembre, aunque este pigmento es fuertemente variable dependiendo de las condiciones ambientales (radiación solar).

Tabla 8:Concentración de pigmentos (µg/L) determinados en Ba. A. Brown , P. Guaraní medio y Ba. Ushuaia en la campaña Beagle-02/13.

Pigmento	Est. 4 B.Ushuaia	Est. 6 B. Brown (e)	Est. 14 P. Guaraní	Est. 22 B Brown (e)	Est. 25 P. Guaraní
Clorofila *C3*		0,0118		0,024	0,01
Clorofilda		0,025	0,072	0,119	0,073
MGDVP	0,015	0,034	0,019	0,034	0,012
Clorofila *C2*	0,092	0,254	0,207	0,711	0,29
Clorofila *C1*	0,044	0,078	0,262	0,31	0,122
Peridinina				0,072	
Fucoxantina	0,343	0,765	0,677	2,11	0,89
Hex-fuco			0,182		
Diadinoxantina	0,039	0,091	0,156	0,26	0,151
Alloxantina		0,035	0,024	0,022	0,011
Diatoxantina				0,033	0,026
Zeaxantina			0,014		
Clorofila *b*	0,053	0,048	0,128	0,03	
Clorofila *a*	**0,966**	**2,062**	**1,857**	**5,298**	**2,042**
ββ-caroteno		0,027	0,047	0,065	0,032

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 51
Secretaría Legislativa

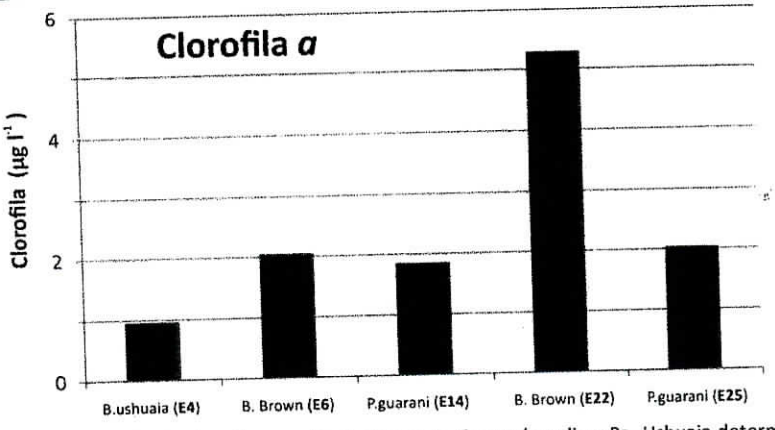


Figura 11. Concentración de clorofila *a* en Ba. A. Brown, P. Guaraní medio y Ba. Ushuaia determinada por HPLC en la campaña Beagle-02/13.

Análisis de toxinas

Si bien mediante el análisis del fitoplancton no se registraron concentraciones importantes de microalgas nocivas en ninguna de las estaciones examinadas, se realizaron estudios de toxicidad tendientes a comprobar si los bivalvos retuvieron toxinas de eventos ocurridos con anterioridad al muestreo. Con este fin se estudió mediante HPLC la presencia de TPM y TAM en una serie de muestras de cholgas y mejillones seleccionadas analizadas previamente en el laboratorio ambiental de SDSyA (Tabla 3).

Aunque se registraron densidades significativas de las diatomeas *Pseudo-nitzschia spp.*, las muestras de cholgas y de mejillones no presentaron toxina amnésica de moluscos. En la Fig. 12 se presenta un cromatograma donde se observa la señal del estándar de ácido domoico (TAM), ausente en las muestras analizadas. En estas solo se observa la presencia de triptófano, un aminoácido que es componente natural de los tejidos de bivalvos.

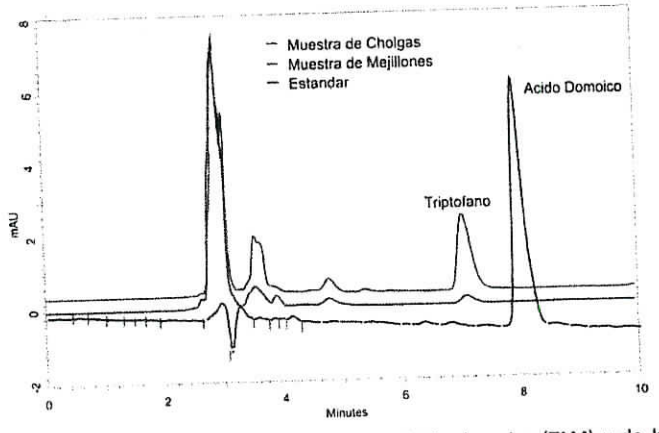


Figura. 12. Cromatograma de la señal del estándar de ácido domoico (TAM) y de las muestras de cholga y mejillón analizadas.

Se analizaron un total de 21 muestras para la detección de TPM, de las cuales 7 dieron resultados negativos por bioensayo. No obstante, en todas fue posible detectar TPM en diferente concentración utilizando el método de HPLC de mayor sensibilidad. Se realizaron los cálculos de toxicidad a partir de las concentraciones de cada una de las toxinas halladas en las muestras y los

factores individuales determinados por Oshima (1995). El coeficiente de correlación entre los resultados calculados por estas dos formas de análisis (expresados como µg de STX eq.kg^{-1} de tejido de moluscos) fue bajo (r= 0,466), lo que demuestra la diferencia de sensibilidad entre ambos métodos a niveles bajos de toxinas (Fig. 13). Es significativa la diferencia observada entre los resultados de ambos métodos en las muestras de Ba. Lapataia, Ba. Ushuaia, Ba. Ensenada, B. Golondrina e I. de los Estados, donde el bioensayo fue negativo pero se pudo detectar TPM por HPLC (914, 627, 181, 134 y 86 µg STX eq.Kg^{-1} respectivamente) (Fig. 14).

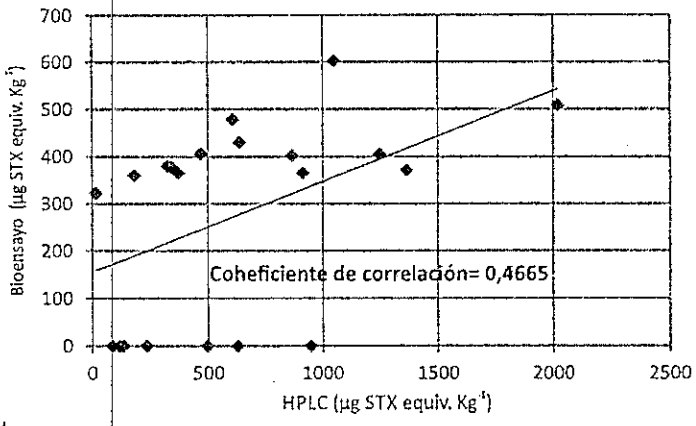


Figura. 13. Correlación entre los resultados de los análisis de toxicidad por TPM obtenidos por bioensayo y por HPLC.

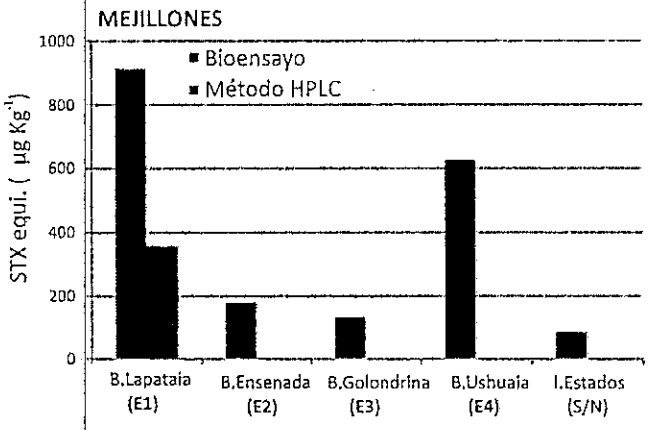


Figura 14. Toxicidad por TPM (µg STX eq. Kg^{-1}) en las muestras colectadas en Ba. Lapataia, Ba. Ensenada, Ba. Glondrina, Ba. Ushuaia e I. de los Estados.

Se observó que en general las cholgas tienen una cantidad mayor de TPM, determinadas por HPLC, que los mejillones para la misma fecha en muestras provenientes de la balsa ubicada en Ba. Brown, entrada (Fig. 15). La muestra de cholgas correspondiente al 2 de septiembre alcanzó la máxima concentración de toxinas totales halladas (299, 4 µgSTX eq. kg^{-1}). La toxicidad y la cantidad de toxinas totales en las muestras de cholgas como de mejillones tiende a descender durante el periodo estudiado, indicando que los bivalvos estaban detoxificando las TPM adquiridas probablemente en un periodo toxico anterior (primavera-verano)

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 59
Secretaría Legislativa

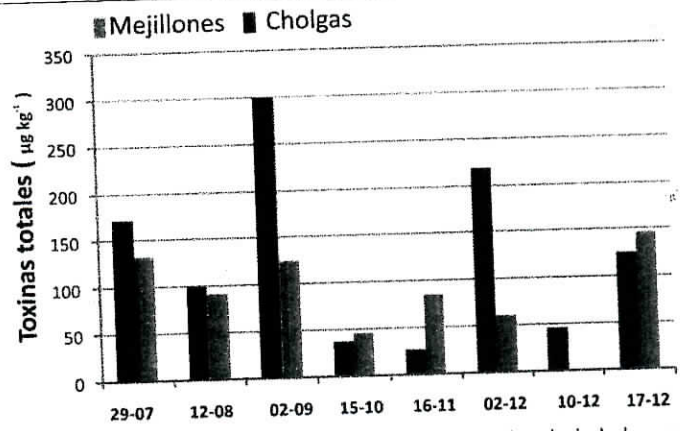


Figura 15: Contenido total de toxinas en cholgas y mejillones tomados de la balsa en la entrada de Ba. Brown correspondientes al año 2013 determinado por HPLC.

Sin embargo a pesar del proceso de detoxificación de los moluscos en el período estudiado, fue posible observar un aumento de toxicidad y concentración total de toxinas tanto en mejillones como en cholgas en las muestras colectadas el 2 de septiembre y el 2 de diciembre del año 2013 en la balsa indicando que en días inmediatamente anteriores podría haber ocurrido un crecimiento de dinoflagelados productores de TPM, aunque de baja permanencia temporal (Fig. 16)

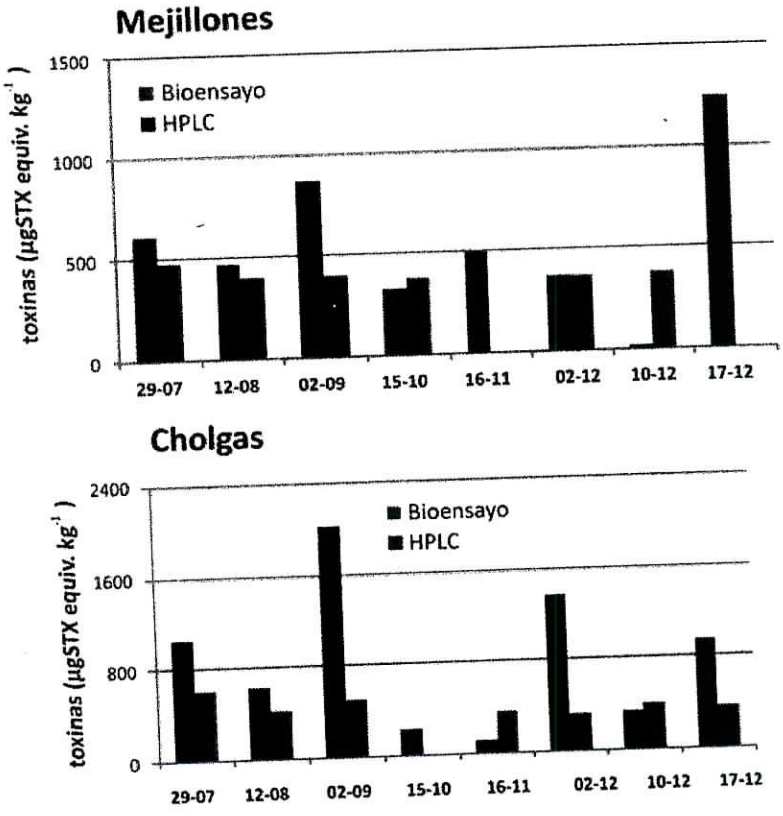


Figura16. Toxinas paralizantes de moluscos expresadas como toxicidad (µg STX equiv. kg^{-1} de tejido) determinados por bioensayo y por HPLC en A) mejillones y B) cholgas de la entrada de Ba. A Brown (estación 6) recolectados desde el 29 de julio al 16 de diciembre de 2013.

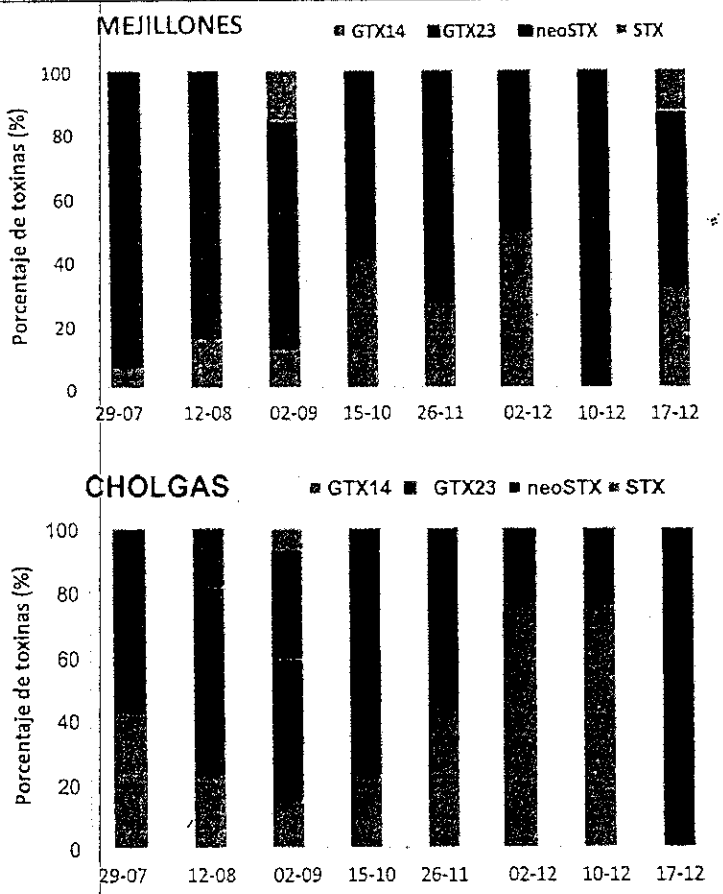


Figura 17. Porcentaje de cada una de las toxinas detectadas en Cholgas y mejillones de la entrada de Ba. A Brown (estación 6) recolectados desde el 29 de julio al 16 de diciembre de 2013. (GTX14 es la suma de los epímeros GTX1 y GTX4), (GTX23 es la suma de los epímeros GTX2 y GTX3

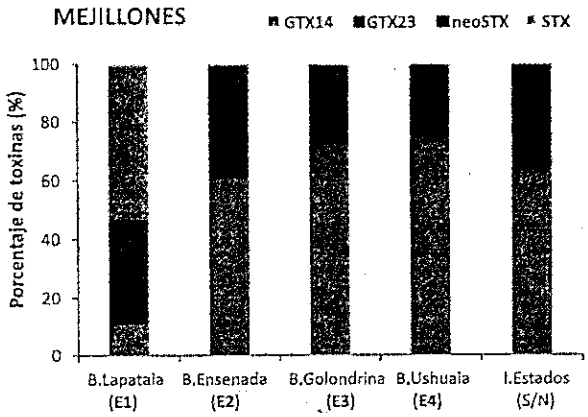


Figura 18. Perfil de toxinas de muestras de mejillones tomadas el 10 de diciembre de 2013 en Ba. Lapataia, Ba. Ensenada, Ba. Golondrina e Isla de los Estados. (GTX14 es la suma de los epímeros GTX1 y GTX4), (GTX23 es la suma de los epímeros GTX2 y GTX3

El perfil tóxicode las muestras, tanto de mejillones como de cholgas, fue variable y presentó

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
Poder Legislativo
Nº 53
Secretaría Legislativa

gonyautoxinas GTX1, GTX2, GTX3 y GTX4 como las principales toxinas presentes (Fig. 17). Dada la rápida epimerización que ocurre en este grupo de toxinas, se expresaron los porcentajes agrupándolos en pares epiméricos (GTX2/3 y GTX1/4). Otras toxinas detectadas fueron las muy tóxicas neo-STX y STX. Estas últimas solo estaban presentes en las muestras de mejillones colectadas el 2 y 17 de diciembre en la balsa y el 10 de diciembre en Ba. Lapataia (Fig. 18) lo que podría indicar una incorporación más reciente de las toxinas; pues en el inicio del evento tóxico los mejillones mantienen el perfil del dinoflagelado productor, pero luego los procesos de transformación metabólica o enzimática causan la variación del perfil tóxico (Oshima, 1995). Lo mismo ocurre con el par epimérico GTX1/4, cuya concentración es mayor que la del par GTX2/3 en muestras naturales de *A. tamarense,* y es mayoritario en las muestras de mejillones de Ba. Ensenada, Ba. Golondrina Ba. Ushuaia e Islas de los Estados.

3.2. Campaña *Beagle 01/14.*

La segunda campaña de investigación, *Beagle 01/14*, se realizó entre los días 12 y 22 de diciembre de 2014. Participaron en la misma el Lic. Hugo Benavides y el Tec.Mario Carignan, pertenecientes al Proyecto Mareas Rojas del INIDEP, y personal del Laboratorio Ambiental y de la Dirección General de Desarrollo pesquero y Acuícola de la SDSyA de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur.

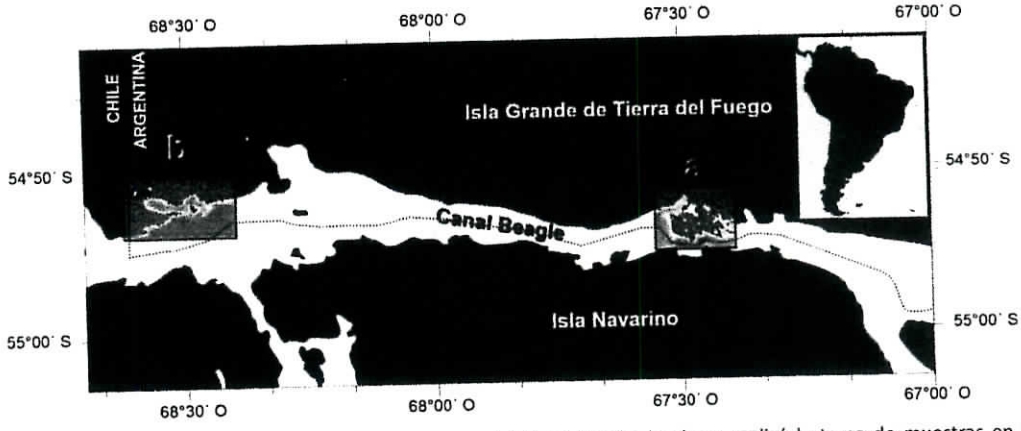


Figura 19. Ubicación del área de estudio y sectores del Canal Beagle donde se realizó la toma de muestras en la campaña Beagle01/14. A) Sector de Ba. A. Brown y su sistema de drenaje. B) Sector de Ba. Lapataia

La campaña abarcó un área del sector argentino del Canal Beagle (54°55´S) entre 67°25´O y 68°34´O (Fig. 19). Dentro del mismo se desarrollaron actividades de toma de muestras en la zona de Ba.A. Brown (54°52,50´S – 67°33,50´O), principal área de cultivo y extracción comercial de mejillones de la región (Fig. 20), y en Ba. Lapataia (54° 51´S – 68° 33´O), sobre el extremo oeste del sector argentino del canal (Fig. 21).

En base a la información obtenida en la campaña de investigación realizada en diciembre de 2013, se seleccionaron 3 sitos de muestreo en el área de Ba. A. Brown y su sistema de drenaje (estaciones **1**, **2** y **3**), ubicados en la entrada de la bahía(54°52,411´S - 67°32,769´O), en su interior (54°51,694´S - 67°30,619´O) y en el Paso R. Guaraní Medio (54°52,128´S - 67°27,297´O) (Fig. 20).En Ba. Lapataia se realizó un muestreo de fitoplancton y de mejillones (estaciones **4** y **5**) con el propósito de comparar las comunidades y los niveles de toxicidad de los bivalvos (Fig.21).

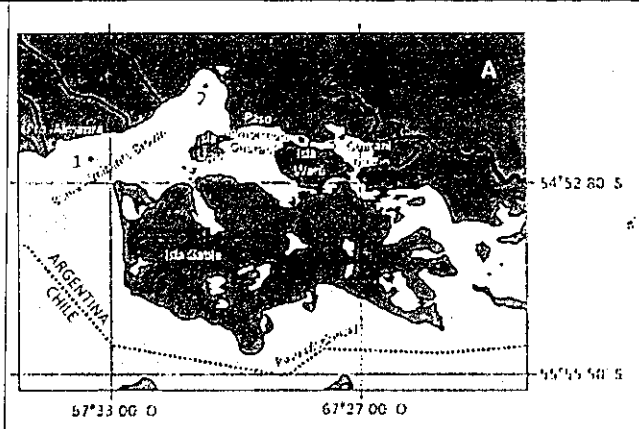


Figura 20. Ubicación de las estaciones de muestreo situadas en Bahía Almirante Brown.

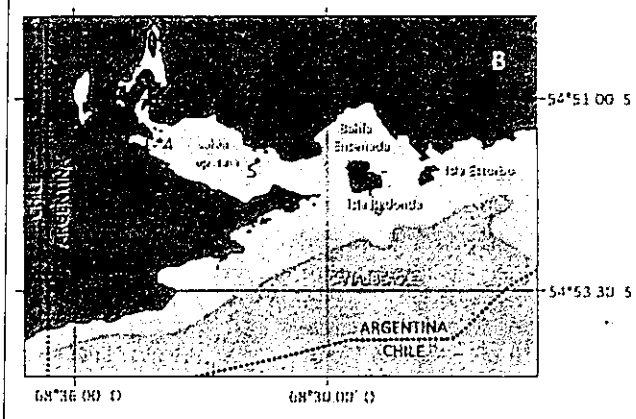


Figura 21. Ubicación de las estaciones de muestreo situadas en Ba. Lapataia

Muestras obtenidas

Para la toma de muestras y la medición de parámetros ambientales en Ba.A. Brown y Ba. Lapataia se empleó una embarcación semi-rígida provista por la Dirección General de Desarrollo Pesquero y Acuícola de la SDSyA.

Se realizaron las siguientes actividades de muestreo y toma de datos (Tabla9):

Tabla 9. Ubicación de las estaciones de muestreo y muestras obtenidas en la campaña Beagle-01/14.

Est.	Fecha	Ref. geográfica	Longitud	Latitud	Muestras obtenidas
1	15-12-14	Ba. Brown (entrada)	67°32,769' O	54°52,411' S	Temperatura – salinidad -Fitoplancton red/cuantitativa - zooplancton –toxinas - pigmentos - nutrientes - mejillón (*cultivo*) – SPATT.
2	15-12-14	Ba. Brown (interior)	67°30,619' O	54°51,694' S	Temperatura – salinidad -Fitoplancton red/cuantitativa - zooplancton –toxinas - pigmentos - nutrientes
3	15-12-14	Paso Guaraní (medio)	67°27,297' O	54°52,128' S	Temperatura – salinidad -Fitoplancton red/cuantitativa - zooplancton –toxinas - pigmentos - nutrientes
4	17-12-14	Ba. Lapataia (interior)	68°33,800' O	54°51,600' S	Fitoplancton red/cuantitativa - mejillón (*banco*) –toxinas - pigmentos - nutrientes
5	17-12-14	Ba. Lapataia (entrada)	68°31,600' O	54°51,850' S	Fitoplancton red/cuantitativa –toxinas - pigmentos - nutrientes –

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL
Poder Legislativo FOLIO Nº 54 Secretaría Legislativa

Medición de variables ambientales

En las estaciones realizadas en Ba.A. Brown se hicieron mediciones de temperatura superficial con termómetro de mercurio protegido y se tomaron muestras de 250 ml. de agua de mar para el análisis posterior de salinidad en el Gabinete de Oceanografía Física del INIDEP.

Muestras de agua de mar:

Se tomaron muestras de agua para el análisis de pigmentos y de nutrientes, a realizarse posteriormente en el Laboratorio de Producción Primaria y Biotoxicidad del INIDEP.

Para el análisis de pigmentos las muestras de 2,0 L de agua fueron previamente tamizadas con una malla de 80 µm. y filtradas por filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (0,7 µm. de poro). Los filtros se almacenaron en freezer. Para el análisis de nutrientes, 10 mL de cada muestra fueron filtrados por filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F y almacenados en crioviales en un freezer. El traslado de las muestras congeladas desde la ciudad de Ushuaia hasta a Mar del Plata se realizó en contenedores refrigerados con geles especiales a -21°C.

Muestras de fitoplancton.

En todas las estaciones realizadas se tomaron muestras de fitoplancton mediante barridos horizontales con red de 20 µm. de malla para analizar las especies de microalgas presentes. Las mismas fueron transportadas vivas hasta el laboratorio donde una fracción fue fijada con formaldehído neutralizado al 4% y otra fracción fue mantenida para estudios *in-vivo*. También se tomaron muestras de agua de 250 ml. para los recuentos celulares de especies de microalgas tóxicas, las que fueron fijadas con una solución de Lugol.

En el Laboratorio Ambiental de la SDSyA se realizó un análisis microscópico preliminar de las muestras de red colectadas en Ba. A. Brown y Ba. Lapataia para detectar la presencia de especies tóxicas.

Análisis de pigmentos.

El material retenido en el filtro fue extraído con ultrasonido durante 30 segundos a 0°C utilizando metanol 100% como disolvente. Para eliminar los desechos celulares los extractos fueron filtrados a través de filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/F). Inmediatamente antes de la inyección en el sistema de HPLC, los extractos fueron diluidos con agua hasta obtener una solución de metanol al 70 % (Jeffrey et al., 1997). Alícuotas de estos extractos fueron inyectadas automáticamente en un sistema de HPLC Shimadzu LC10 A. Para el análisis de los pigmentos se utilizó el método de Zapata et al., (2000). Los pigmentos fueron identificados por sus tiempos de retención y espectros de absorción obtenidos en continuo por el detector de arreglo de diodos. Para la cuantificación de los pigmentos identificados, se emplearon estándares de alta pureza que fueron adquiridos al VKI (The International Agency for ^{14}C Determination, Denmark) o aislados de cultivos de *Emiliania huxleyi* (Haptophyta) clone CCMP 370 y del dinoflagelado *Alexandrium tamarense* clone MDQ 1096. Aquellos pigmentos detectados para los que no se conocen sus coeficientes de extinción, se cuantificaron empleando los coeficientes de extinción de los pigmentos conteniendo el cromóforo de mayor similitud (por ejemplo la clorofila c3 fue cuantificada como equivalentes de clorofila c2). Los resultados del análisis se expresan en µg de pigmento contenidos en un litro de muestra.

Muestras para análisis de toxinas

Toxinas en Plancton

En las estaciones de muestreo **1**, **2** y **3**, realizadas en la Ba. A. Brown y el Paso Guaraní Medio, se tomaron muestras de plancton para el análisis de toxinas en diferentes fracciones de tamaño (Tabla 10). Un volumen de 20 litros de agua de mar fue tamizado primeramente por una malla de 150 µm., luego por una de 65µm. y finalmente por una de 20 µm. 2,0 L del agua tamizada resultante se filtró con un filtro GF/F para estudiar las toxinas en la fracción menor de 20 µm. Cada tamiz fue lavado con agua de mar filtrada para recuperar el material retenido, y la muestra de cada fracción así obtenida fue diluida hasta un volumen de 200 ml. De este volumen, se preservó una muestra de 50 ml. con formol neutralizado para identificar las especies de zooplancton y fitoplancton presentes y estimar su concentración. Los 150 ml restantes fueron filtrados por filtros de 0,7 µm de poro, los que fueron luego almacenados a – 20 °C para el análisis de toxinas.

Tabla 10. Muestras obtenidas para el análisis de toxinas en agua de mar y en plancton.

Estación	fecha	Lugar	Característica de la muestra		
1	15-12-14	B. Brown (entrada)	TLM - Gel SPATT - (prof. 2m.)		
1	15-12-14	B. Brown (entrada)	TLM - Gel SPATT - (prof. 2m.) (duplicado)		
1	15-12-14	B. Brown (entrada)	TLM - Gel SPATT - (prof. 10m.)		
1	15-12-14	B. Brown (entrada)	TLM - Gel SPATT - (prof. 10m.) (duplicado)		
1	15-12-14	B. Brown (entrada)	Plancton f 150 - 65 µm.	Plancton f 65 - 20 µm.	Plancton f <20 µm.
2	15-12-14	B. Brown (interior)	Plancton f 150 - 65 µm.	Plancton f 65 - 20 µm.	Plancton f <20 µm.
3	15-12-14	Paso Guaraní Medio	Plancton f 150 - 65 µm.	Plancton f 65 - 20 µm.	Plancton f <20 µm.

4.4.2. Toxinas en bivalvos.

Tanto en Ba. A. Brown como en Ba. Lapataia se colectaron muestras de 2 kg de mejillón (*Mytilus edulis)* para análisis de toxinas.

Las muestras colectadas en Ba. A. Brown fueron obtenidas de la balsa de cultivo de mejillones ubicada en la entrada de la bahía, próxima a la estación de muestreo **1**, y las muestras tomadas en Ba. Lapataia fueron obtenidas de los bancos naturales situados en la línea de costa. También se tomó una muestra de cholga (*Aulacomya atra*) del banco natural ubicado en el interior de Ba. Brown. Las muestras colectadas fueron trasladadas refrigeradas hasta el Laboratorio Ambiental en Ushuaia para su procesamiento, donde fueron almacenadas en un freezer a -20 °C. Por causas que no pudieron ser establecidas, las muestras colectadas para el análisis de toxinas en moluscos bivalvos se extraviaron antes de ser procesadas para su análisis, razón por la cual no se dispone de esta información para ser incluida entre los resultados de la campaña.

Bolsas SPATT (solid phase adsorption toxin tracking)

Como parte de las experiencias realizadas para evaluar el empleo de muestreadores pasivos (bolsas SPATT) para el monitoreo de los niveles de toxicidad en las balsas de cultivose realizó el recambio de las bolsas colocadas 10 días antes por el personal de la SDSyA en la balsa situada en la entrada de Ba. A. Brown. Las bolsas SPATT sumergidas a 2 m. y 10 m. de profundidad fueron retiradas de los soportes plásticos, especialmente diseñados para su protección, y remplazadas por otras nuevas conteniendo 2 g. de resina DIAION HP20 (Mitsubishi Chemical Corporation) previamente activada con metanol y agua destilada (Tabla 2).

Las bolsas SPATT retiradas de la balsa de cultivo se conservaron en frio (-21°C) hasta llegar al

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 55 Secretaría Legislativa

Laboratorio Ambiental de la SDSyA. En iguales condiciones fueron transportadas hasta la ciudad de Mar del Plata, junto con los extractos de toxinas obtenidos previamente por el Laboratorio Ambiental a partir de muestras correspondientes a las bolsas SPATT recambiadas durante el período precedente a la fecha de realización de la campaña. La extracción de toxinas de la resina se realizó con metanol 100 % según el método propuesto por MacKenzie et al., 2004, conservándose una alícuota del extracto a -21°C para el posterior análisis por HPLC-MS de las toxinas lipofílicas adsorbidas durante el período de inmersión.Por encontrarse el detector de espectrometría de masa fuera de servicio por una avería, estas muestras no pudieron ser analizadas aún.

Resultados obtenidos en la campaña Beagle-01/14

Parámetros ambientales.

En las mediciones realizadas en Ba. A. Brown el día 15 de diciembre se registró una temperatura superficial de 8,0 °C en la entrada de la bahía, que se incrementó levemente en el interior de la misma (8,2 °C), y hasta 8,5°C el en sector de Paso Guaraní Medio. La salinidad registrada varió entre 30,99 en la entrada de la bahía, en las proximidades de la balsa mejillonera, y 30,07 en su sector interior. También se hicieron mediciones de salinidad en Ba. Lapataia, donde el día 17 de diciembre se registró una salinidad de 23,57 en su parte externa y 9,18 en su sector interno. La baja salinidad registrada en el interior de la bahía fue provocada por el aporte de agua dulce del río Lapataia, cuya desembocadura está situada en el vértice interno de la bahía, a corta distancia de la estación realizada. (Tabla 11).

Tabla 11. Temperatura y salinidad registradas en la campaña Beagle 01/14.

Estación	Lugar	Temperatura (°C)	Salinidad ()
1	Ba. Brown (entrada)	8,0	30,99
2	Ba. Brown (interior)	8,2	30,07
3	Paso Guaraní Medio	8,5	30,28
4	Ba. Lapataia (interior)	-	9,18
5	Ba. Lapataia (entrada)	-	23,57

Análisis del fitoplancton.

En las muestras tomadas en la campaña Beagle 01/14 se identificó un total de 35 especies de fitoplancton, pertenecientes a los grupos de diatomeas, dinoflagelados, Cryptophytas, Prasinophytas, Haptophytas, Chlorophytas, Euglenophytas, Raphidiophytas y Cyanoprocariotas.

Los recuentos celulares mostraron una dominancia de Cyanoprocariotas en casi todas las muestras colectadas, y una co-dominancia de Haptophytas del género *Phaeocystis sp.* en las muestras obtenidas en el área de Ba. A. Brown y en el sector externo de Ba. Lapataia. Las Cyanoprocariotas mostraron una dominancia máxima de 85,6% en el interior de Ba. Lapataia, y de 51,4% en el sector externo de Ba. A. Brown. Las Haptophytas presentaron una abundancia relativa máxima de49,8 % en el interior de Ba. A. Brown, que disminuyó hacia su entrada (37%) y hacia el Paso Guaraní medio (20,8 %).En la estación 5 situada en la parte externa de Ba. Lapataia presentó una abundancia relativa de 31%, pero estuvo completamente ausente en su sector interior. El resto de los grupos observados presentaron una baja abundancia relativa, en la que las diatomeas fueron sub-dominantes, seguidas por las Cryptophytas y Prasinophytas; excepto en la muestra colectada en el Paso R. Guaraní Medio, donde las Prasinophytas mostraron una abundancia relativa de 17,0%(Tabla 12).

Tabla 12. Porcentajes de abundancia relativa de los diferentes grupos de fitoplancton en las muestras colectadas en la campaña Beagle-01/14.

Grupos	Est. 1 Ba.Brown (e)	Est. 2 Ba.Brown (i)	Est. 3 Guaraní Medio	Est. 4 Ba.Lapataia(i)	Est. 5 Ba.Lapataia(e)
Diatomeas	4,2	2,4	3,8	4,8	9,7
Dinoflagelados	0,6	0,2	0,7	1,3	3,2
Raphidiophyta	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Prasinophyta	3,4	0,0	17,0	0,0	0,0
Cryptophyta	3,4	1,1	9,5	0,0	2,9
Haptophyta	37,0	49,8	20,8	0,0	31,0
Chlorophyta	0,0	0,0	0,0	0,3	8,9
Prymnesiophyta	0,0	0,0	0,0	0,0	8,6
Euglenophyta	0,0	0,0	0,0	8,0	2,9
Cyanoprocariota	51,4	48,5	48,2	85,6	32,9

A pesar de la mayor abundancia relativa de las Cyanoprocariotas y Haptophytas en la mayoría de las muestras, la mayor biomasa respecto a los demás grupos de fitoplancton correspondió a las diatomeas por su volumen celular considerablemente mayor; como lo evidencia la concentración de fucoxantina en los análisis de pigmentos fotosintéticos realizados.

La población de diatomeas estuvo dominada por varias especies formadoras de cadenas del género *Thalassiosira*, entre las que *Thalassiosira mendiolana* predominó en las muestras colectadas en Ba. A. Brown, y *T. delicatula* en Ba. Lapataia (Tabla 13). A diferencia de lo observado en las muestras tomadas el año anterior en la misma época, no se observó la presencia de especies de diatomeas del género *Pseudo-nitzschia,* potenciales productoras de toxina amnésica de moluscos (TAM); ni de especies del género Chaetoceros, salvo en la parte externa de Ba. A. Brown y Ba. Lapataia donde su presencia fue muy escasa.

También se observó la presencia, aunque con muy baja abundancia relativa, de algunas especies de dinoflagelados del género *Dinophysis* (*D. acuminata* en el Paso Guaraní medio *y D. rotundata en Ba. Lapataia*) productoras de toxinas lipofílicas de moluscos (TLM). El dinoflagelado *Alexandrium ostenfeldii,* recientemente identificado como especie tóxica, productora de toxinas paralizantes de moluscos (TPM) y de toxinas lipofílicas del grupo de los espirólidos, fue observado ocasionalmente y con muy escasa abundancia (>80 cel.lt^{-1}) en la Ba. A. Brown; mientras que la especie *A.tamarense,* también productora TPM, fue observada en el interior de Ba. Lapataia en baja concentración. También se registró la presencia de otras especies de fitoplancton potencialmente nocivas como *Chattonella sp.,* género que incluye varias especies productoras de neurotoxinas extracelulares que causan muertes masivas de peces (Okaichi, 1989).

Tabla 13. Recuentos celulares por especie (cel.l^{-1}) en las muestras cuantitativas de fitoplancton colectadas en la campaña Beagle-01/14.

Diatomeas	Est. 1 B.Brown (e)	Est. 2 B.Brown (i)	Est. 3 Guaraní Medio	Est. 4 Lapataia (i)	Est. 5 Lapataia (e)
Chaetoceros sp.	180				100
Cylindrotheca closterium			1.021		
Cyclotella striata		20			
Fragillaria sp.				40	
Gyrosigma sp.				1.530	
Thalassiosira mendiolana	2.860	340	5.360	60	1.200
Thalassiosira delicatula	640		80	2550	2000

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 56 Secretaría Legislativa

Thalassiosira eccentrica	100			740	
Stephanopixis palmeriana					120
Total diatomeas	**3.780**	**360**	**6.461**	**4.920**	**3.420**
Dinoflagelados					
Alexandrium ostenfeldii	80		40		
Alexandrium tamarense				220	40
Ceratium furca			80	160	840
Ceratium lineatum	360	180	760	768	100
Dinophysis acuminata			40		
Dinophysis rotundata				20	
Gymnodinium sp.		20			20
Scrippsiella patagónica	60	40	120		
Prorocentrum obtusum					20
Protoperidinium metananum			80		
Protoperidinium nudum					40
Protoperidinium simulum			80	20	
Protoperidinium sp.			40	100	60
Total dinoflagelados	**500**	**240**	**1.240**	**1.288**	**1.120**
Raphidiophytas					
Chattonella sp.		**240**	**80**		
Prasinophytas					
Pyramimonas sp.	510		12.280		3.570
Tetraselmis sp.	2.550		1.6885		
Total Prasinophytas	**3.060**		**29.165**		
Cryptophytas					
Cryptomonadales	**3.060**	**1.530**	**16.336**		**1020**
Haptophytas					
Emiliania huxleyi	1020				280
Phaeocystis sp.	3.2130	7.0890	35.735		10.710
Total Haptophytas	**3.3150**	**7.0890**	**3.5735**		**1.0990**
Chlorophytas					
Staurastrum sp.				160	80
Cosmarium sp.				160	3.060
Total Chlorophytas				**320**	**3.140**
Prymnesiophytas					
Chrysochromulina sp.					**3.060**
Euglenophytas					
Euglenophyta				**8.160**	**1.020**
Cyanoprocariotas					
Synechocystis cf. salina			82.890	29.184	11.550
Chroococcus sp.				520	80
Coelosphaerium sp.				57.600	
Total Cyanoprocariotas	**46.080**	**6.9120**	**8.2890**	**87.304**	**1.1630**
Ciliophora					
Marionecta rubra	**40**			**20**	

Las diferencias observadas en la composición específica de las muestras colectadas en el interior de Ba. Lapataia respecto a las colectadas en la parte externa y en Ba. A. Brown, estuvieron asociadas a la desembocadura del río Acicami (río Roca) en el sector más interno de la bahía. Como resultado de la descarga de este importante río, proveniente del lago Acicami (lago Roca), la comunidad fitoplanctónica presentó una mayor diversidad de grupos taxonómicos, con preponderancia de especies pertenecientes a grupos característicos de ambientes de agua dulce como las Chlorophytas *Staurastrum sp.* y *Cosmarium sp.*, las Cyanoprocariota *Coelosphaerium sp.* , que presentó la mayor abundancia relativa, y algunas Euglenophyta. No obstante, considerando las marcadas diferencias de volumen celular de las especies, las diatomeas fueron el grupo que aportó gran parte de la biomasa fitoplanctónica.

Análisis de pigmentos

Se identificaron 20 diferentes pigmentos en las 5 muestras analizadas, cuya concentración se presenta en la Tabla 14. En general, los niveles de clorofila *a* hallados fueron bajos, siendo la muestra tomada en el interior de Ba. Lapataia la que presentó la mayor concentración (1,016 $\mu g L^{-1}$) (Tabla 14).

Se observó un perfil pigmentario diverso. En todas las muestras el carotenoide principal fue fucoxantina, pigmento marcador de diatomeas, aunque también está presente en Haptophyta y Pelagophyta. Peridinina, pigmento marcador de los dinoflagelados, estuvo presente en todas las muestras excepto en el interior de Ba. A. Brown. La mayor concentración correspondió al interior de Ba. Lapataia (0,056 $\mu g\ L^{-1}$), y disminuyó hacia la parte externa de la bahía. Fue importante la concentración de pigmentos marcadores de Haptophytas (4-keto-19'-hexanoiloxifucoxantina (Hex-Kfuco), y 19'- hexanoiloxifucoxantina (Hex-fuco) en la zona de Ba. Brown. Zeaxantina, pigmento marcador de Cyanoprocariota estuvo presente en todas las muestras, y su máxima concentración se registró en Ba. Brown; mientras que en Ba. Lapataia fueron importantes las concentraciones de clorofila *b*, pigmento marcador de algas verdes (Fig. 22).

Tabla14. Concentración de pigmentos ($\mu g l^{-1}$) hallados en Ba. A. Brown , P. Guaraní medio y Ba. Lapataia en la campaña Beagle-01/14.

Pigmento	Est. 1 Ba. Brown (e)	Est. 2 Ba .Brown (i)	Est. 3 Guaraní. Medio	Est. 4 Ba. Lapataia (i)	Est. 5 Ba. Lapataia (e)
Clorofila C3	0,01	0,01	0,011		
Clorofilda	0,006	0,011	0,014		
MGDVP	0,004	0,006	0,01		
Clorofila C2	0,043	0,055	0,069	0,064	0,066
Clorofila C1	0,009	0,004	0,006	0,037	0,068
Peridinina	0,015		0,017	0,056	0,033
Fucoxantina	0,117	0,116	0,138	0,167	0,242
Neoxantina		0,005	0,008	0,02	
Prasinoxantina		0,003	0,004		
Hex-Kfuco		Trazas	Trazas		
Violaxantina		0,006	0,009		
Hex-fuco	0,012	0,011	0,011		
Diadinoxantina	0,034	0,037	0,038	0,079	0,042
Alloxantina	0,02	0,078	0,104	0,022	0,012
Diatoxantina	0,01			0,012	0,006
Zeaxantina	0,006	0,012	0,011	0,003	0,027
Clorofila *b*	0,024	0,045	0,061	0,197	0,021
Clorofila *a*	0,455	0,609	0,733	1,016	0,951
Alfa Caroteno		0,002	0,004		
Beta caroteno	0,004	0,005	0,005	0,009	0,009

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 57 Secretaría Legislativa

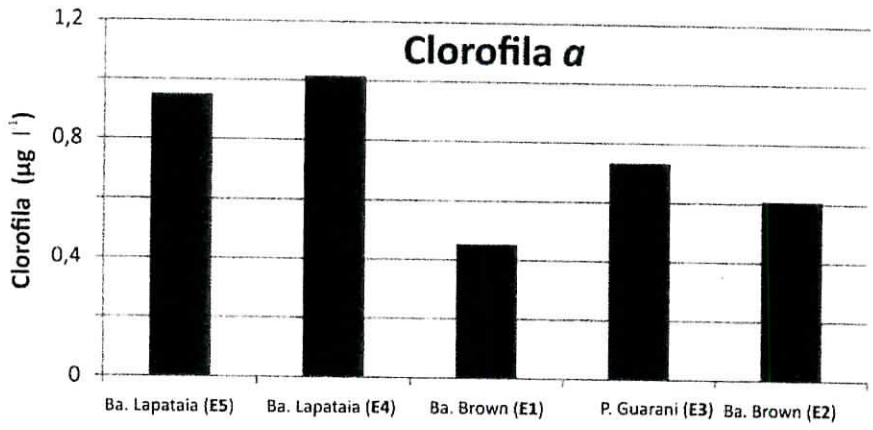


Figura 22. Concentración de clorofila *a* en Ba. A. Brown, P. Guaraní medio y Ba. Ushuaia determinada por HPLC en la campaña Beagle-01/143.

Análisis de toxinas

Solo se encontraron trazas de TPM en las muestras de plancton analizadas en las que se halló un perfil tóxico simple, solo se observó la mezcla de epímeros GTX2/3, indicando una muy baja concentración de células tóxicas en el plancton. El resto de las toxinas del complejo TPM que normalmente están presentes en las células de dinoflagelados como *A. tamarense* o *A. catenella* se encontraron por debajo del límite de detección del método. La concentración de TPM en agua de mar fue 30,82 pmol l^{-1} en Ba. Lapataia, 46,725 $pmoll^{-1}$ en la entrada de Ba. A. Brown, 32,325 $pmoll^{-1}$ en el sector interior de Bahía Brown y 40,35 $pmoll^{-1}$ en Paso guaraní Medio.

4. ESTUDIOS AUTOECOLÓGICOS EN CULTIVOS DE DINOFLAGELADOS TOXICOS AISLADOS DEL CANAL BEAGLE.

Con el propósito de estudiar las características taxonómicas, fisiológicas, químicas y moleculares de las especies de microalgas nocivas que periódicamente ocasionan eventos tóxicos en el canal, se aislaron y mantuvieron en cultivo clones de *Alexandium ostenfeldii, Alexandrium cf. tamarense* y *Prorocentrum lima* a partir de muestras vivas de fitoplancton colectadas durante las campañas de investigación realizadas.

Metodología empleada.

Muestras colectadas con red de fitoplancton en el área de Ba. A. Brown durante las campañas Beagle-02/13 y Beagle-01/14 fueron transportadas vivas al Laboratorio Ambiental de la SDSyA en Ushuaia. Las muestras fueron posteriormente acondicionadas y transportadas por medio aéreo hasta el Laboratorio de Producción Primaria y Biotoxicidad del INIDEP en Mar del Plata, donde después de un período de aclimatación a las condiciones de luz y temperatura existentes en la cámara de cultivos, se ensayó la aislación de células individuales de las especies de microalgas tóxicas presentes.

La aislación de las células se realizó mediante micro-capilares de vidrio bajo observación microscópica, para ser colocadas individualmente en placas de cultivo tisular conteniendo medio de cultivo L1 a una salinidad de 30 psu. Las placas fueron mantenidas en una cámara de cultivos con 11 °C de temperatura y un ciclo de luz/oscuridad de 14/10 hs. Después de observarse división celular, las células fueron transferidas a volúmenes mayores de medio, en recipientes de vidrio, para el desarrollo de los cultivos masivos.

Los cultivos en fase de crecimiento exponencial fueron utilizados para analizar el perfil de TPM

y la concentración de las diferentes toxinas, la composición de los pigmentos fotosintetizadores y la composición de aminoácidos similares a micosporinas (MAAs) por HPLC. El análisis de TPM y pigmentos fotosintetizadores fue realizado siguiendo los métodos antes descriptos de Oshima et al., (1995) y Zapata et al.,(2000) respectivamente. Para el análisis de MAAs por HPLC, alícuotas de 50 ml de cada cultivo fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F, extraídas con 2 ml de metanol 100% y sonicadas durante 1 min con un sonicador Vibra Cell (Sonic and Material, Inc.) en modo pulsante a 40 W. El extracto fue filtrado a través de un filtro de jeringa Whatman Puradisc® (25 mm, 0.7 µm). El residuo contenido en el filtro fue re-extraído dos veces con 1 ml de metanol 100%. Los extractos combinados, fueron evaporados a sequedad en un evaporador centrifugo (Centrivap, Labconco, Co.) y el residuo re-disuelto en 500 µL de una solución 0,2% de ácido trifluoroacético e hidróxido de amonio (pH=3,12). Esta solución fue ultra-filtrada con un filtro Whatman UstraSpin® de 100 kDa a 15000 *g* durante 5 min. Las muestras fueron analizadas en un HPLC Shimadzu 20 A siguiendo el método de Carreto et al.,(2005). La identificación de los MAAs fue realizada por su tiempo de retención y por co-cromatografía con estándares autenticados. La cuantificación fue realizada comparando áreas de picos desconocidos con áreas de soluciones estándares calibradas utilizando los coeficientes de extinción (ε) reportados por Bandaranayake, (1998).

Resultados

La concentración de clorofila *a* en *A. ostenfeldii* fue de 15 pgcel^{-1}, mientras que para *A. cf. tamarense* fue tres veces mayor 46,4 pgcel^{-1}. La menor concentración de pigmentos en *A. ostenfeldii* se vio reflejada en la cantidad de pigmentos totales por célula, que fue 32,26 pgcel^{-1}mientrs que para *A. cf. tamarense* de 87,82 pgcel^{-1}. El perfil de pigmentos hallado en los dos cultivos fue similar y corresponde al típico perfil de dinoflagelados, con peridinina como carotenoide principal seguido por clorofila c2, y el grupo de carotenoides diadinoxantina, diatoxantina, dinoxantina, β caroteno y peridídinol (Fig. 23).

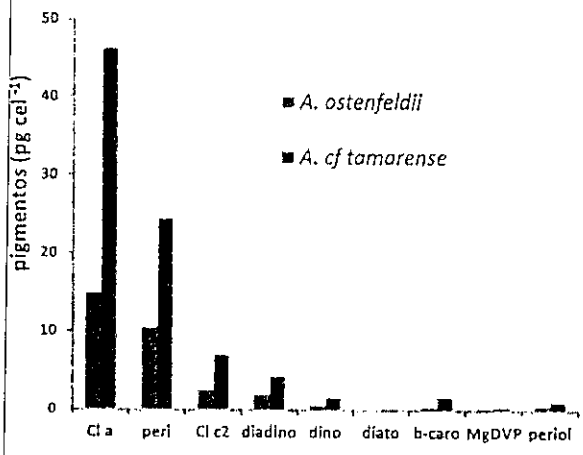


Figura 23. Concentración de pigmentos en los cultivos de *Alexandrium cf. tamarense* y *A. ostenfeldii* aislados del Canal Beagle.

Diferencias importantes se encontraron en la cantidad y el tipo de toxinas halladas en los dos dinoflagelados. *A ostenfeldii* produce principalmente toxinas del tipo espirólido (Almandoz et al., 2014) y solo se detectaron trazas de toxinas del grupo de TPM. El contenido total de TPM en *A. ostenfeldii* fue de 0,27 fmol cel^{-1}, mientras que en *A. cf. tamarense* fue de 18,8 fmol cel^{-1} (70 veces más). En cuanto al perfil de toxinas en *A. ostenfeldii* solo se detectaron bajas concentraciones de GTX2/3, mientras que el perfil de *A. cf. tamarense* fue más complejo y similar al detectado para cultivos de A. tamarense aislados de Península Valdés; con máximas concentraciones de GTX4 y C2 seguido de C1, GTX3 y GTX2 (Fig. 24). La toxicidad expresada como pg STX eq. cel $^{-1}$ fue de 11,83 para *A.*

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 58 Secretaría Legislativa

cf. tamarense y de 0,66 para *A. ostenfeldii.*

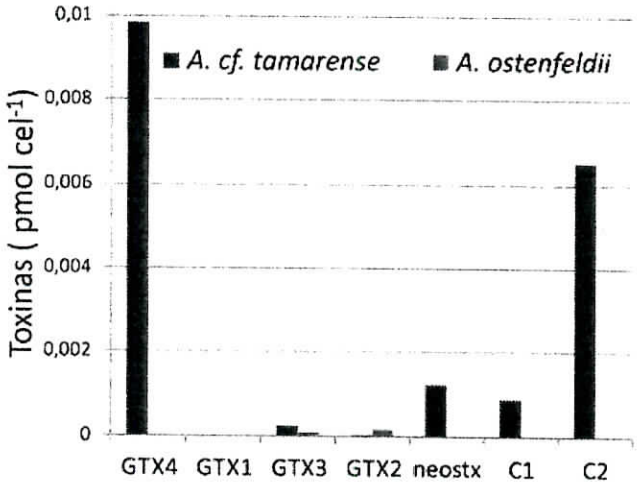


Figura 24: Concentración celular de toxinas paralizante de moluscos en cultivos de *Alexandrium cf. tamarense* y *A. ostenfeldii*

La concentración de MAAs totales en *A. ostenfeldii* alcanzó 4,97 fgcel^{-1}, siendo su composición en MAAs individuales relativamente menos compleja que la de otras especies de *Alexandrium* (Carreto et al., 2001). Se identificaron y cuantificaron 6 MAAs, siendo las más abundantes shinorine y palythene (1,66 y 2,06 fgcel^{-1} respectivamente). Las 4 MAAs restantes (palythine, shinorine methyl ester, porphyra-334 y mycosporine glycine presentaron valores de concentración semejantes, comprendidos en el rango de 0,20 a 0,43 fgcel^{-1} (Fig. 25).

La composición en MAAs individuales de A. cf. tamarense fue muy similar a la registrada para otras especies de *Alexandrium* estudiadas previamente (Carreto et al., 2001), identificándose hasta 10 diferentes MAAs: shinorine, palythine, porphyra-334, mycosporine-glycine, acido z-palythenico, shinorine methyl ester, usujirene, palythene y los MAAs complejos M-320 y M335/360 (Fig. 25). Shinorine y palythene aparecen también como los más abundantes (5,20 y 6,92 fgcel^{-1} respectivamente). También su concentración total de MAAs (31,7 fgcel^{-1}) fue similar a la registrada en otras especies de *Alexandrium* creciendo en iguales condiciones de irradiancia (Carreto et al., 2002), aunque fue notablemente superior (~6 veces) a la determinada para *A. ostenfeldii.*

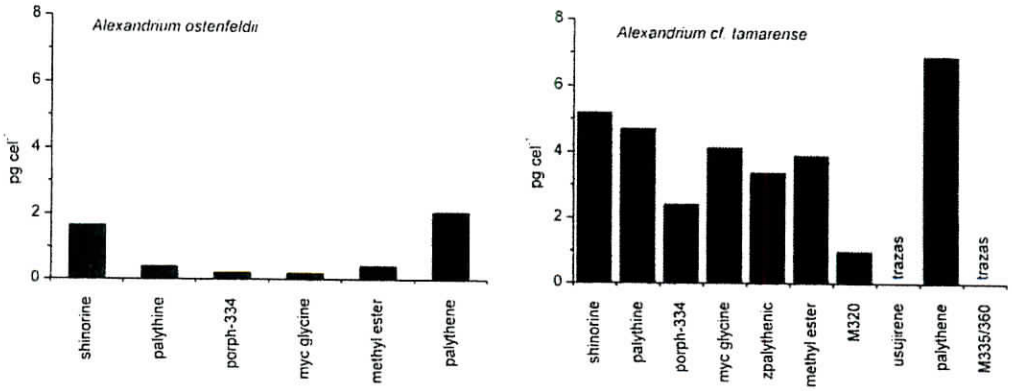


Figura 25. Concentración celular de MAAs individuales en cultivos de *Alexandrium ostenfeldii* y *A.cf. tamarense*

Estudios en desarrollo.

El aislamiento de cultivos de dinoflagelados tóxicos del Canal Beagle ha permitido profundizar en el conocimiento de algunas de las características ecofisiológicas específicas que influyen en su crecimiento y en los efectos nocivos que estos producen; como la producción de MAAs y la composición específica de sus perfiles de toxinas. Además, han dejado abierta la posibilidad de realizar nuevos estudios que complementen la información disponible y amplíen nuestro conocimiento sobre estas especies. Algunos de los estudios en desarrollo son los siguientes:

- Identificación taxonómica de la cepa de *Alexandrium cf. tamarense* aislada del canal Beagle. Si bien la especie fue identificada morfológicamente mediante microscopía óptica, la variabilidad observada en algunas de las placas tecales hace necesario un estudio más detallado empleando microscopía electrónica de barrido MEB para su confirmación. No obstante, su perfil de toxinas obtenido en los análisis de realizados por HPLC es coincidente con el obtenido de cultivos de *A. tamarense* aislados de Península Valdés; y los estudios sobre sus bases moleculares realizados hasta el momento la relacionan genéticamente con los de la especie *Alexandrium tamarense*, por lo que se espera que el análisis morfológico con microscopía electrónica confirme su identidad en este sentido.
- Estudio de la composición pigmentaria y factores óptimos de crecimiento, del perfil de toxinas y la composición de los MAAs de *Prorocentrum lima*. Estos estudios no pudieron ser realizados aún debido a su aislación reciente y a la muy baja velocidad de división de la especie (0,05 div.día^{-1}) (Bravo et al., 2001); y en el caso particular del análisis de toxinas lipofílicas (TLM), por encontrarse fuera de servicio el sistema HPLC-MS.
- Evaluación de la variabilidad genética de *Alexandrium cf. tamarense* y *A. ostenfeldii*. Una fracción de cada uno de estos cultivos fueron enviados a Alemania al AWI (Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research) para realizar los estudios moleculares en colaboración con investigadores de la División Ficología de la Fac. de Ciencias Naturales y Museo de la UNLP y del AWI, Alemania.

5. DISCUSIÓN DE LOS DE RESULTADOS

El cultivo de mejillón (*Mytilus edulis*) en la provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur se realiza exclusivamente en la zona de Puerto Almanza, ubicada en la Ba. Almirante Brown del Canal Beagle, la cual es considerada el área de producción de esta especie más austral del mundo. La explotación de mejillón en el área tiene un alto potencial de desarrollo, debido a que la provincia cuenta con condiciones agroecológicas inigualables que favorecen su comerciabilidad (amplia disponibilidad del recurso y excelente calidad y tamaño de los mejillones); por lo que los productores locales cuentan con ventajas comparativas para acompañar esta tendencia(Bertolotti et al., 2014). A pesar de esta realidad supuestamente positiva, el sector necesita superar algunos inconvenientes para lograrlo, entre los que se encuentran los eventos de toxicidad por microalgas nocivas. La frecuencia de estos sucesos, la diversidad de especies tóxicas que se presentan y las lentas velocidades de detoxificación de los moluscos en la región de Canal Beagle son factores de riesgo importantes que deben ser evaluados para asegurar el apropiado manejo de esta pesquería.

Las condiciones físicas del ambiente, tales como la turbulencia y la advección por mareas o por circulación de las masas de agua, son esenciales para la comprensión de la distribución vertical de los organismos, la formación de floraciones de microalgas nocivas, y los patrones de toxicidad regionales. Tanto la dinámica de las poblaciones como la producción de toxinas puede ser modulada en varias formas por los parámetros ambientales, como temperatura, salinidad y disponibilidad de nutrientes (Reid, 1997; Smayda et al., 2001, Smayda, 202), por lo que es necesario conocer su distribución dentro de la bahía para evaluar las formas más apropiadas de manejo en los sistemas de cultivo de mejillón y reducir los riesgos sanitarios asociados a la ocurrencia de eventos tóxicos.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO 59 Nº Secretaría Legislativa

La circulación de las corrientes hidrográficas dentro de la bahía A. Brown tiene características particulares debido a su condición de bahía "*semi-cerrada*". **Sus aguas permanecen dentro durante el** descenso de la marea, y se renuevan durante su ascenso de Oeste hacia el Este, ingresando desde la zona de Pta. Paraná, y orientándose a través del paso Piedra Buena para luego pasar por el paso Remolcador Guaraní (Balestrini et al., 1998;Amin 1999). Amin (1999) registró el movimiento de agua dentro de la bahía mediante boyas de deriva, y observó que la corriente no es suficiente para que las boyas liberadas en la zona central se dirijan hacia el final de la bahía (Bal. Brown); por lo que infiere que el recambio de agua se produce por diferencia de mareas más que por corrientes netas en la zona interior.

La distribución de los parámetros ambientales registrados en este estudio permitió diferenciar cuatro zonas dentro del área, con diferentes características hidrobiológicas determinadas principalmente por la circulación, los aportes de agua dulce y la profundidad:

1.- La zona aledaña a la costa norte, desde la entrada hasta el sector central de la bahía, caracterizada por un estrato superficial de agua muy diluida por el aporte local de agua proveniente del Río Almanza, que además determinó mayor aporte de nutrientes inorgánicos. Esta estructura vertical de dos capas es característica de los fiordos durante los meses de verano o primavera-otoño como consecuencia del deshielo (Isla et al., 1999), y se observó también en algunas bahías y accidentes costeros de otros sectores del canal donde el proceso de mezcla es restringido (Balestrini et al., 1998), y en algunos canales chilenos (Vera et al., 1996).La descarga de agua dulce continental en áreas costeras contribuye directamente la formación de una capa de mezcla superficial que tiene un pronunciado efecto sobre diferentes organismos planctónicos. La brusca disminución superficial de la salinidad produce una marcada estratificación salina, que disminuye la turbulencia. La baja turbulencia es un factor crítico que favorece el florecimiento de los flagelados (Margalef, R. 1978). La estabilidad de la columna de agua inducida por la estratificación salina es uno de las condiciones que favorecen el crecimiento de dinoflagelados del genero Dinophysis, como fue observado por Peperzak et al.,(1996) para los florecimientos de *Dinophysis acuminata* en el Mar del Norte. Los florecimientos de esta especie en la región de Antifer, Francia fueron también relacionados con la marcada disminución de salinidad y aumento de nitratos causada por el desplazamiento superficial de aguas estuariales del Sena (Lassus et al., 1993). En los fiordos del sur de Chile, el crecimiento y acumulación del fitoplancton fueron asociados a un aumento de la estabilidad vertical y estratificación superficial de la columna de agua debido a la fusión de los campos de hielos continentales (Avaria, 2008; Pizarro et al., 2000).

2.- La zona aledaña a la costa de Isla Gable, desde la entrada hasta el sector central de la bahía, con una casi completa homogeneidad vertical de los parámetros físicos y salinidades mayores de 30.6 en toda la columna de agua. La mayor salinidad y la ausencia de estructura vertical indican que la zona está más relacionada al flujo central del canal (Isla et al., 1999), que tiene mayor incidencia sobre este sector de la bahía debido a la barrera geográfica ofrecida por la Isla Gable.

3.- La zona interior de la bahía, donde la circulación restringida permitió el desarrollo parcial de una estructura vertical en la distribución de los parámetros físicos. El desplazamiento restringido de agua registrado en el interior de la bahía determina las características hidrobiológicas particulares de este sector, considerado como un área de retención; donde la baja velocidad y el intercambio reducido favorecen la sedimentación de partículas de menor granulometría, y el desarrollo incipiente de una estructura vertical en la distribución de los parámetros físicos. Estudios previos sobre la composición granulométrica de los sedimentos en el sector interior de la bahía, mostraron una alta proporción (30%-40%) de limo-arcillas; a diferencia de los sedimentos del sector central y sector costero, presentó una composición mayoritaria de arenas (Amin, 1999). Las áreas con circulación restringida, donde prevalece la sedimentación sobre el transporte, pueden funcionar como trampas de sedimentos y por lo tanto reservorios potenciales de estadíos bentónicos de algunos dinoflagelados. Las hipnocigotas de resistencia producidas por muchas especies de dinoflagelados tienden a concentrarse en sedimentos finos más que en los gruesos arenosos, debido a que tienen un comportamiento hidrodinámico similar al de las partículas de limo (Dale,1976; Anglesetal.,2010); **dando lugar a la formación de "bancos" de**

quistes. La presencia de estos bancos tiene una considerable significación biológica debido a que la germinación de los quistes proporciona un inóculo inicial para la formación de florecimientos de dinoflagelados o la producción de eventos locales de toxicidad (Anderson y Wall, 1978; Anderson, 1984); por lo cual el estudio de las poblaciones bentónicas de quistes de dinoflagelados y la localización de las áreas que actúan como reservorios de estos quistes proporciona una información importante, que puede proveer una alerta temprana sobre la presencia y abundancia de especies tóxicas en éstas áreas.

4.- La zona del Paso Remolcador Guaraní, donde la escasa profundidad favoreció el incremento de la temperatura y la penetración de la radiación solar hasta el fondo. La gran disponibilidad de luz sobre el fondo en este sector proporciona condiciones favorables para el crecimiento de especies bentónicas de fitoplancton como *Prorocentrum lima*. Esta especie, productora de toxinas lipofílicas, tiene un hábito principalmente bentónico o epifítico (Faust, 1991); y fue observada en las muestras de fitoplancton tomadas en el lugar, aunque en baja abundancia.

El predominio de dinoflagelados comúnmente registrado a principios de diciembre en el área del canal Beagle está caracterizado por la presencia de especies productoras de toxina paralizante de moluscos (TPM), como *Alexandrium catenella* y *A. tamarense* (Benavides, et al., 1995, Guzmán et al., 2002, Almandoz et al., 2011), la cual se evidencia en los niveles de toxicidad de moluscos bivalvos registrados en los monitoreos de toxinas realizados rutinariamente en el área (Luizón C. com. pers.). La inusual ausencia de toxicidad registrada en diciembre de 2013 y diciembre de 2014, fue coincidente con la reducida presencia de dinoflagelados observada en el plancton y la ausencia total de las especies de Alexandrium mencionadas, las que normalmente causan el incremento de toxicidad en esta época del año en la Bahía A. Brown. La ausencia de estas especies de dinoflagelados y la dominancia del género Chaetoceros en el plancton observada durante el período en que se realizó la campaña en diciembre de 2013, mostraron que la comunidad de fitoplancton se hallaba en una etapa temprana de desarrollo, indicando un retraso en la típica secuencia sucesional descripta por Margalef (1978); que comienza a principios de primavera con el florecimiento de diatomeas pequeñas, formadoras de cadenas y de rápido crecimiento, como la mayoría de las especies del género Chaetoceros. Florecimientos de Chaetoceros han sido registrados previamente en otros sectores del Canal Beagle durante la primavera temprana (Avaria et al., 2003, Pizarro et al., 2005). Almandoz et al (2011) estudiaron la variación estacional de la composición del fitoplancton en área de Bahía Brown durante un ciclo anual, y observaron que el incremento en la biomasa y densidad celular registrado a principios de primavera está asociado al florecimiento de varias especies de diatomeas del género Chaetoceros; entre las que presentan mayor abundancia *C. socialis*, *C. tortissimus*, *C. debilis* y *C. decipiens*. Igualmente, la única especie de Alexandrium observada en las muestras tomadas en este período (*A. ostenfeldii*) es normalmente observada en el plancton durante el mes de octubre, en coincidencia con el inicio del florecimiento primaveral de las diatomeas; causando un pico menor de toxicidad en los moluscos bivalvos del área en ese período (Hernando, M. *com. pers.*).

De acuerdo al estudio realizado por Almandoz et al.,(2011), el florecimiento de Chaetoceros es seguido por un pico menor de abundancia representado por el género Thalassiosira; después del cual la biomasa de diatomeas decrece, incrementándose la abundancia de los dinoflagelados sobre el final de la primavera. La composición específica del fitoplancton durante la campaña realizada en diciembre de 2014 estuvo dominada en términos de biomasa por la diatomea formadora de cadenas *Thalassiosira mendiolana*, y en menor proporción por *T. decipiens*. Esta composición y la ausencia de toxicidad en este período sugieren que, al igual que lo observado en diciembre de 2013, de la comunidad fitoplanctónica se hallaba en una etapa temprana de la secuencia sucesional clásica.

Las diferencias observadas en la composición específica de fitoplancton en el área estudiada pueden estar relacionadas a las condiciones atmosféricas registradas durante los meses de primavera previos. Según la información publicada por el Servicio Meteorológico Nacional en el Boletín Climatológico, se registraron anomalías térmicas negativas a partir de la primavera de 2013 hasta enero de 2014, principalmente en el centro y sur de la Patagonia (SMN, Boletín Climatológico Trimestral vol.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 60 Secretaría Legislativa

XXV, 2013); siendo el verano 2013/2014 el más frio de las últimas 5 décadas. Igualmente, se registraron anomalías térmicas negativas durante la primavera y verano de 2014 (SMN, Boletín Climatológico Trimestral vol. XXVI, 2014). Otra anomalía registrada por el SMN durante la primavera de 2013 y la de 2014 fue que las frecuencias de días con cielo cubierto fueron marcadamente positivas en la región. Los registros atmosféricos obtenidos por la estación meteorológica 879380 (SAWH) del aeropuerto de la ciudad de Ushuaia también mostraron que tanto la temperatura media como la máxima media y la mínima media durante los meses de primavera de 2012 a 2014 estuvieron por debajo de las respectivas medias históricas, y el valor promedio de la velocidad del viento en este período fue superior al valor medio histórico (Fig. 26).

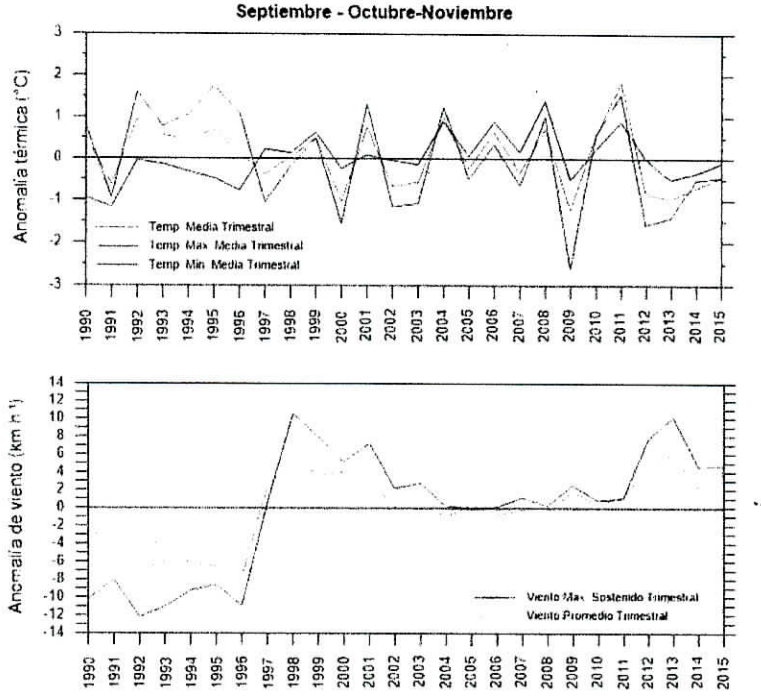


Fig. 26. Anomalías de temperatura (°C) y viento (km h^{-1}) según los registros históricos obtenidos por la estación meteorológica aeroportuaria de Ushuaia (879380 SAWH).

Las anomalía atmosférica registrada pudo haber sido uno de los factores que causó el retraso en el desarrollo de la secuencia sucesional usual del fitoplancton en la región, alterando la composición específica esperada para este período del año; lo cual pone de manifiesto la necesidad de realizar un monitoreo frecuente de los parámetros atmosféricas regionales para favorecer la interpretación de la variabilidad observada en las comunidades de fitoplancton.

Otra característica inusual para la región es la dominancia completa de *Synechocystis* cf. *salina* en Bahía Lapataia no registrada en muestreos previos, probablemente debido el escaso tamaño de las células, que no favorece su retención en las muestras tomadas con red de fitoplancton. La gran abundancia de esta especie y la ausencia de dinoflagelados indicaron que este sector del canal también estuvo sujeto a condiciones inusuales para el desarrollo del fitoplancton en los meses previos a la campaña.

Las fracciones de nano y picoplancton son importantes componentes del fitoplancton en los océanos, carentes en algunos casos de caracteres morfológicos definitorios, su estudio requiere técnicas especiales. Estos organismos, presentan un conjunto complejo de pigmentos fotosintéticos

(clorofilas, carotenoides, y ficobilinas) distribuidos selectivamente en diferentes taxones (Jeffrey et al., 1997). La existencia de pigmentos marcadores asignables a diferentes niveles taxonómicos, generalmente al nivel de clase, excepcionalmente al nivel de género y especie es una ayuda importante para la caracterización en muestras naturales. En las campañas analizadas, se ha podido clasificar componentes del nano y pico-plancton según su perfil pigmentario, siendo el primer estudio de este tipo que se realiza en B. Lapataia y B. Brown, observándose una muy buena correlación entre los pigmentos y los grupos fitoplanctónicos observados por microscopio. El aporte del análisis de pigmentos por HPLC a la elucidación de la composición cualitativa del fitoplancton no debe suponer el abandono de técnicas como la microscopía, y en todo caso será la suma de diferentes visiones, lo que permitirá un mejor conocimiento de la estructura de la comunidad fitoplanctónica

Los niveles de clorofila hallados tanto en la campaña del año 2013 como las del 2014, corresponden con una etapa inicial del crecimiento fitoplanctónico primaveral. Sin embargo en la campaña de 2014 las concentraciones de pigmentos fueron mucho menores, indicando un menor desarrollo, aunque de mayor diversidad. La presencia de altas concentraciones de fucoxantina, la baja diversidad pigmentaria y el incremento en el nivel de clorofila *a* del 10 al 17 de diciembre de 2013 se corresponden con el crecimiento de diatomeas observado y es coincidente con la disminución de nutrientes registrada entre ambos muestreos. La alta concentración de cyanoprocariotas observado por microscopio, no es tan notable en el perfil pigmentario pues las ficobiliproteinas, importantes pigmentos de este grupo fitoplanctónico, no son detectadas por HPLC. Para la identificación de cianobacterias se utiliza como marcador el carotenoide zeaxantina, cuya concentración es variable de acuerdo a las condiciones de luz a las que están adaptadas las comunidades fitoplanctónicas. Este es un problema adicional difícil de resolver, el cambio en las proporciones de pigmentos que resultan de los procesos de fotoadaptación y fotoaclimatación que operan en las comunidades naturales provocando cierta heterogeneidad en el plano vertical. Dado que en la región y durante la primavera es máxima la disminución de la capa de ozono resulta interesante en un futuro sumar estudios de fotoadaptación y presencia de aminoácidos similares a micosporinas en la región. En este sentido el estudio realizado sobre dos aislados tóxicos de la región *A. ostenfeldii* y *A. cf. tamarense*, nos proporcionó las características de pigmentos, micosporinas y toxinas en cultivo y nos permitirá realizar una serie de estudios de fotoaclimatación controlada.

Perfil de Toxinas y toxicidad:

En la región se han registrado varias especies de diatomeas del género *Pseudo-nitzschia*, (*P.australis, P. calliantha, P. fraudulenta and P. cf. Seriata*) potenciales productoras de ácido domoico (TAM) (Almandoz et al., 2011).Sin embargo, en el canal solo se ha detectado AD en una campaña realizada en abril de 2012, en la que no se identificó la especie productora (Krock et al., 2015). La no presencia de AD en las muestras estudiadas puede deberse a diversos factores. El primer factor a considerar es una baja concentración de células o bajo nivel de toxinas por célula y por lo tanto un nivel de toxinas no detectable. Otro punto a tener en cuenta es que la producción de toxinas por el género *Pseudo-nitzschia* depende de múltiples factores tanto externos (nutrientes, luz, hierro, cobre etc) como internos (fase de crecimiento, endobacterias, etc) (Lelong et al., 2012). La presencia de una especie potencialmente tóxica en el plancton no es sinónimo de toxicidad, pero es un alerta y por lo tanto es necesario realizar los estudios correspondientes para verificar su capacidad como productor de toxinas y monitorear los posibles organismos afectados.

El análisis oficial de Toxinas Paralizantes de Moluscos en Argentina se realiza por el método tradicional de biensayo con ratones (SAGYP, 2006). Sin embargo, por razones éticas, en la Comunidad Europea no se considera éste un método adecuado. El uso potencial de técnicas analíticas para reemplazar bioensayos con ratón está siendo discutido siendo los métodos que utilizan HPLC los más adecuados. El método analítico permite conocer y cuantificar cada una de las 23 toxinas que forman el grupo de TPM y por lo tanto es el método ideal para estudiar los fenómenos de transferencia y metabolización en los diferentes organismos afectados. Sin embargo, presenta algunas desventajas en los programas de monitoreo cuando es necesario controlar en forma rápida una gran cantidad de

COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 61
Secretaría Legislativa

muestras (Etheridge, S.M, 2010). Frente a la rápida y segura respuesta que brinda el bioensayo, el método oficial de análisis por HPLC de la UE tiene el inconveniente de la interpretación de los resultados, la necesidad de contar con todos los estándares, y el tiempo de extracción, purificación y análisis de las muestras (EFSA ,2009). Frente a este problema una solución que se está evaluando es la utilización de kits rápidos para el análisis rutinario en los programas de monitoreo (Etheridge, S.M, 2010).

Aunque no se detectaron especies toxicas en el plancton en diciembre de 2013, el análisis de toxinas por HPLC en muestras de bivalvos del mismo periodo mostró la presencia de TPM, en muy bajas concentraciones, por lo que es de suponer que en el período estudiado no hubo eventos extraordinarios de especies toxicas de fitoplancton. Con el objetivo de estudiar la evolución temporal de la toxicidad se analizaron muestras de mejillones y cholgas correspondientes a un período de 5 meses anteriores a la campaña. En el análisis de las muestras colectadas en el periodo julio a diciembre de 2013, si bien 9 muestras fueron negativas por bioensayo, en todas fue posible detectar TPM en diferente concentración utilizando el método más sensible de HPLC. El bajo coeficiente de correlación observado entre los métodos, puede deberse al error típico del bioensayo (20-30%), a que la sensibilidad del HPLC es superior, o a la presencia de sustancias (no TPM) que son toxicas para los ratones y no son detectadas por el método de HPLC (Costa et al., 2009). En este estudio se observa el período de detoxificación de los moluscos, los resultados sugieren que las toxinas fueron adquiridas en un evento tóxico que ocurrió en el canal en el verano de 2012-2013 (Eriksson N, *com. pers.*). Se observó sin embargo, tanto en mejillones como en cholgas, un incremento del contenido total de toxinas en las muestras tomadas el 2 de septiembre, y 17 de diciembre, esta última en el periodo comprendido por las campañas aquí presentadas. Si bien en la comunidad fitoplanctónica no se observa un incremento de las especies productoras de TPM, otros factores pueden influir en la variabilidad observada. Un factor posible en la variación del perfil de toxinas en las muestras de bivalvos es la diferente composición de toxinas en los dinoflagelados *A. tamarense, A. catenella y A. ostenfeldii*, cuya sucesión en el plancton podría reflejarse como una cambio en el perfil tóxico en las primeras etapas de intoxicación de los mejillones. Además, los cambios fisiológicos de estadio y madurez sexual de los bivalvos puede modificar el contenido de humedad y grasas total de la muestra, con el consecuente cambio en la cantidad relativa de toxinas expresadas en peso húmedo (Bricelj y Shumway 1998). La diferencia de toxicidad entre mejillones y cholgas obtenidas en cultivo o en bancos naturales se ha observado en otros estudios (Bricelj y Shumway 1998). La distribución vertical de los dinoflagelados y las diferencias en los patrones de segregación vertical comparando poblaciones submareales con intermareales producen importantes diferencias en la exposición, tasas de ingestión y la bioenergética globales entre los moluscos (Bricelj y Shumway 1998). En la región de Canal Beagle el tiempo de detoxificación de los mejillones suele ser más lenta por la baja temperatura del agua, lo que ocasiona una baja velocidad de metabolización de las toxinas adquiridas. Alvarez M., (2014), observa un evento ocurrido en octubre de 2009 que impuso una veda que continuo durante casi todo el año 2010. Otro factor importante en la velocidad de detoxificación es la concentración inicial de toxinas y los eventos en Canal Beagle suelen ser muy tóxicos (Goya y Maldonado, 2014).

La baja concentración de toxinas detectada en el plancton para la campaña de diciembre de 2014 es coincidente con la baja presencia de *A. tamarense* en B. Lapataia y de *A. ostenfeldii* en B. Brown. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que *A. ostenfeldii* aislado del Canal creciendo en condiciones óptimas de cultivo, solo produce muy baja cantidades de GTX2/3, resta estudiar si en medio natural su producción es mayor. Esta característica se observó en *A. tamarense* aislado de la plataforma bonaerense creciendo en similares condiciones de cultivo y en medio natural, con diferentes niveles de toxicidad por célula y de composición en el perfil tóxico (Montoya et al., 2010). El cultivo de *A. cf. tamarense* aislado del Canal Beagle presenta un perfil de pigmentos, micosporinas y toxinas similar al de *A. tamarense* aislado de la plataforma bonaerense .

6. CONCLUSIONES FINALES.

- Durante los meses de diciembre de 2013 y 2014 se observó una alteración en la estructura de la comunidad de fitoplancton del área respecto a la observada en años previos en este período del año, indicando un retraso en las primeras etapas de la sucesión clásica. Este retraso en la sucesión influyó en el patrón anual de formación de los florecimientos de especies nocivas en el canal, y consecuentemente en los niveles de toxicidad de bivalvos normalmente registrados en esta época. Ya que esta modificación se corresponde con algunas condiciones climatológicas inusuales registradas en la región durante los meses previos, se advierte la necesidad de contar con un registro continuo de las variables meteorológicas para intentar desarrollar una capacidad predictiva de los florecimientos de algas nocivas en el canal. Así mismo, se considera que dado el desarrollo de las actividades de acuicultura en la bahía, los parámetros físico-químicos, deberían ser monitoreados debido a que resultan susceptibles de ser modificados por esta actividad.

- La circulación hidrológica restringida en el sector interior de la Bahía A. Brown, determinan un área de retención con características ambientales propicias para el desarrollo de dinoflagelados, como una mayor estabilidad vertical y baja turbulencia, que además facilita la sedimentación de sus formas de resistencia y la formación de bancos de quistes, que constituyen el inóculo inicial para el desarrollo de florecimientos locales en la próxima temporada estival. Las características particulares de este sector de la bahía revelan la importancia de incluir un análisis microscópico de los sedimentos bentónicos junto con el monitoreo de las especies tóxicas presentes en el plancton, y de los factores meteorológicos para estimar el éxito de las germinaciones o la posibilidad de desarrollo de un florecimiento.

- La Ba. Lapataia posee características ambientales particulares que no permiten comparar las poblaciones de fitoplancton con las de Ba. Brown, pero son altamente favorables para el desarrollo de especies de dinoflagelados nocivos; como lo demuestra el record histórico de toxicidad registrado en 1992. No obstante, la circulación hacia el Atlántico de las aguas del canal hacen que por su ubicación en el límite oeste de la costa argentina, los florecimientos originados en los fiordos chilenos y transportados por las corrientes puedan ser detectados con cierta anticipación.

- Si bien el método de determinación de toxicidad por bioensayo tiene las ventajas de su rapidez y baja especificidad, la sensibilidad del análisis de TPM por HPLC permitió determinar niveles muy bajos de toxinas con precisión, proporcionando una ventaja temporal para detectar el proceso de intoxicación de los bivalvos. Los dos métodos son herramientas complementarias para el monitoreo. Dado que el análisis de TAM solo se puede realizar por HPLC, si bien no se ha detectado la toxina en moluscos, es necesario monitorearla periódicamente. Por todo esto sería importante contar con un equipo HPLC en la región de Tierra del Fuego.

- Los florecimientos de microalgas nocivas, como *Alexandrium catenella,* han causado pérdidas económicas significativas a la industria del salmón en el sur de Chile (Mardones et al., 2015) y representan una preocupación constante para las actividades de cultivo y extracción del mejillón en el Canal Beagle. La experiencia obtenida en los últimos años sobre los eventos de toxicidad nos ha demostrado que se debe prestar especial atención al advenimiento de nuevas especies tóxicas, o a la ocurrencia de nuevos síndromes tóxicos en la región. Algunas de aquellas producen toxinas que afectan especialmente a los organismos en cultivo, pero también en forma directa a los peces e invertebrados de ambientes naturales. Los intentos de cuantificar el valor económico de los ecosistemas marinos naturales son recientes, sin embargo resulta claro que la pérdida de recursos marinos de valor no comercial también tiene severas consecuencias indirectas; ya que las toxinas pueden ser transferidas a través de la cadena trófica produciendo mortalidad de mamíferos (Wilson et al., 2016) y aves marinas (Montoya, 2007). Este escenario plantea la necesidad de intensificar los estudios de las floraciones de algas nocivas y sus consecuencias en la región.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº62 Secretaría Legislativa

Agradecimientos.

Los autores agradecen la colaboración de la Sub-Secretaría de Desarrollo Sustentable y Ambiente y la Dirección General de Desarrollo Pesquero y Acuícola del Gobierno de la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur para la realización de las campañas, tanto por resolver los aspectos logísticos y operativos de las mismas (traslado hacia los sitios de muestreo, provisión de una embarcación semi-rígida y facilitar las instalaciones del Laboratorio Ambiental para la observación de las muestras) como por poner a disposición el personal de apoyo necesario para realizar las tareas de muestreo. A la empresa de excursiones marítimas *Rumbo Sur* S.R.L. por su colaboración para el muestreo en las estaciones centrales del canal. Se agradece también la colaboración en los análisis de pigmentos de la Sra. Belén Mattera.

BIBLIOGRAFÍA

A.O.A.C. 1984. Mouse bioassay for PSP toxins. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, secs. 18086-18092.

ALMANDOZ, G.O., HERNANDO, M.P., FERREYRA, G.A., SCHLOSS,I.R., FERRARIO, M.E. 2011. Seasonal phytoplankton dynamics in extreme southern South America (Beagle Channel, Argentina). Journal of Sea Research, Vol. 66:2, 47–57.

ALMANDOZ, G.O., MONTOYA, N., HERNANDO, M.P.,BENAVIDES, H., CARIGNAN, M. FERRARIO, M.E. 2014. Toxic strains of the *Alexandrium ostenfeldii* complex in South America (Beagle Channel, Argentina). Harmful Algae, 37, 100-109.

ÁLVAREZ, M. 2012. Situación actual de las zonas de producción de moluscos bivalvos en referencia a los fenómenos de Marea Roja. Años 2008 al 2011. 5to Taller de Trabajo de la Red de Fortalecimiento para la Maricultura Costera Patagónica y del Taller de Cultivo de Mejillón. Las Grutas, Río Negro: Centro Nacional Patagónico, CONICET. <http://www.cenpat-conicet.gov.ar/mariculturaenred/PresentacionesTaller/Mareasrojas-FerinoAlvarez.pdf>.

AMIN, O.A. 1999. Estudio de las características oceanográficas de la Bahía Almirante Brown. Informe para la Subsecretaría de Recursos naturales y Ambiente Humano de la prov. de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, argentina. 9 pp.

ANDERSON, D.M. 1984. The roles of dormant cysts in toxic dinoflagellate blooms and shellfish toxicity. In: (E. Ragelis, ed.). Seafood toxins. American Chemical Society Symposium series. American Chemical Society, Washington, D.C. pp. 125–138.

ANDERSON, D.M. AND D. WALL. 1978. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and G. excavata in initiating toxic dinoflagellate blooms. J. Phycol. 14: 224–234.

ANGLES, S., GARCES, E., JORDI, A., BASTERRETXEA, G., PALANQUES, A. 2010. *Alexandrium minutum* resting cyst distribution dynamics in a confined site. Deep-Sea ResearchII57(3–4),210–221.

AVARIA, S. 2008. Phytoplankton in the austral Chilean channels and fjords. Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn. N. Silva & S. Palma (eds.). Comité Oceanográfico Nacional - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, pp. 89-92.

AVARIA, S., CACERES, C., CASTILLO, P., MUÑOZ, P. 2003. Distribución del microfitoplancton marino en la zona del Estrecho de Magallanes- Cabo de Hornos, Chile, En la primavera de 1998. (Crucero CIMAR 3 fiordos). Cienc. Tecnol. Mar. 26, 79-96.

BALESTRINI , C., MANZELLA, G., LOVRICH , G. 1998. Simulación de corrientes en el Canal Beagle y Bahía Ushuaia mediante un modelo bidimensional. Servicio de Hidrografía Naval, República Argentina. Departamento Oceanografía. Informe Técnico N°98, 58 pp.

BANDARANAYAKE W.M. 1998. Mycosporines. Are they nature's sunscreens? Nat Prod Rep 15:159–172

BENAVIDES H. MONTOYA N. 2010. Estudio sobre evento tóxico en el Canal de Beagle, Ushuaia. Informe de Campaña: Nº 35/2010

BENAVIDES, H. 2013. Capacitación en métodos de estudio de especies de dinoflagelados tóxicos. INIDEP, *Inf. Ases. y Transf*_075_13, 3 pp.

BENAVIDES, H., L. PRADO, S. DIAZ & J. I. CARRETO.1995.An exceptional bloom of *Alexandrium catenella* in the Beagle Channel, Argentina. In: P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien, and C. Marcaillou, editors. Harmful marine algal blooms. Proceedings of the Sixth International Conference on Toxic Marine Phytoplankton, October 1993, Nantes, France, pp. 113–119.

BERTOLOTTI, M.I., PAGANI A., GUALDONI P., FOSATI. J. 2014. Cadena de producción del cultivo del mejillón en el año 2011 en la provincia de tierra del fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, Argentina. Revista Galega de Economía, vol. 23: núm. extraordinario, pp. 33-50 (ISSN 1132-2799).

BRAVO, I., FERNÁNDEZ, M.L., RAMILO, I., MARTÍNEZ, A. 2001. Toxin composition of the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* isolated from different locations along the Galician coast. Toxicon 39, 1537-1545.

BRICELJ, V. M., & SHUMWAY, S. E. (1998). Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence transfer kinetics and biotransformation. Rev. Fish. Sci., 6(4), 315–383.

CARRETO JI, CARIGNAN MO, MONTOYA NG (2001) Comparative studies on mycosporine-like amino acids, paralytic shellfishtoxins and pigment profiles of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense, A. catenella and A. minutum*. Mar Ecol Prog Ser 223:49–60

CARRETO,J.I, CARIGNAN, M.O, MONTOYA N.G 2002. Short term effects of ultraviolet radiation on the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. Pigment bleaching and MAAs synthesis inhibition. In: Aquaculture, Environment and Marine Phytoplankton. G. Arzul Coord. Ed. IFREMER, Actes colloq.34, 173-190

CARRETO J. I, CARIGNAN M. O. , MONTOYA N.G. 2005. A high-resolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. Marine Biology 146: 237–252

CEMBELLA, A.D., LEWIS, N.I., QUILLIAM, M.A. 2000. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. Phycologia, 39, 67-74.

COSTA, P.R., BAUGH, K.A., WRIGHT, B., RALONDE, R., NANCE, S.L., TATARENKOVA, N., ETHERIDGE, S.M., LEFEBVRE, K.A. 2009. Comparative determination of paralytic shellfish toxins (PSTs) using five different toxin detection methods in shellfish species collected in the Aleutian Islands, Alaska. Toxicon 54 , 313–320.

DALE, B., 1976. Cyst formation, sedimentation, and preservation: factors affecting dinoflagellate assemblages in recent sediments from Trondheimsfjord, Norway. Review in Palaeobotany and Palynology 22, 39–60.

EFSA (European Food Safety Authority), 2009. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on is quest from the European Commission on marine biotoxins in shellfish–summary on regulated marine biotoxins. EFSAJ.1306,1–23

ETHERIDGE S.M. 2010. Paralytic shellfish poisoning: Sea food safety and human health perspectives Toxicon, 56, 108–122

EU-RL-MB European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins 2015. EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS. Version 5, January 2015

FERRARIO, M.E., SAR, E.A., SALA, S. 1995. Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. En: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C., Sar, E.A.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 63 Secretaría Legislativa

(Eds.). Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción. Editora A. Pinto. Chile, pp. 1-23.

FRITZ, L., TRIEMER, R.E., 1985. A rapid simple technique utilizing Calcofluor White M28 for the visualization of dinoflagellate thecal plates. J. Phycol. vol.21, 662-664.

GOYA, A. B., S. MALDONADO.2014.Evolution of PSP toxicity in shellfish from the Beagle Channel (Tierra del Fuego, Argentina): an overview.In: G. Sauvé, editor. Molluscan shellfish safety. XXVI.Netherlands, Springer, pp.15–23.

GRASSHOFF, K., EHRHARDT, M., KREMLING, K., 1983. Methods of sea water analysis, second ed. Verlag Chemie. Weimnheim, 419 pp.

GUZMAN, L, CAMPODÓNICO,E. 1975. Marea Roja en la Región de Magallanes. Publicaciones Instituto de la Patagonia. Serie Monografías, Punta Arenas, Chile, 9: 44 pp.

GUZMAN, L. y G. LEMBEYE, 1975. Estudios sobre un florecimiento tóxico causado por Gonyaulaxcatenella en Magallanes. II— Algunas condiciones hidrográficas asociadas. ANS. INST. PAT., Punta Arenas (Chile). VI (1-2): 185-195.

ISLA, F., BUJALESKY, G., CORONATO, A. 1999. Procesos estuarinos en el Canal Beagle, Tierra del Fuego. Revista de la Asociación Geológica Argentina, 64 (4), 307 – 318.

HYDES, D., AOYAMA, M., AMINOT, A., BECKER, S., COVERLY, S., DANIEL, A., DICKSON, A., GROSSO, O., KEROUEL, R., VAN OOIJEN, J., SATO, K., TANHUA, T., WOODWARD, E. & SANG, J. 2010. Determination of Dissolved Nutrients in Seawater. The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines, IOCCP Report No. 14, ICPO Publication Series No. 34, Version 1. Japan, 88 pp

JEFFREY, S.W., WRIGHT, S.W., 1997. Qualitative and quantitative HPLC analysis of SCOR reference algal cultures. En: Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W. (Eds.), Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods, vol. 10. UNESCO Monographs on Oceanographic Methodology, Paris, pp. 343–360.

KREMP, A., LINDHOLM, T., DRESSLER, N., ERLER, K., GERDTS, G., EIRTOVAARA, S, LESKINEN E,. 2009. Bloom forming *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in shallow waters of the Åland Archipelago, Northern Baltic Sea. Harmful Algae, 8, 318-328.

KROCK, B., BOREL, M., BARRERA, F., TILLMANN, U., FABROD, E., ALMANDOZ, G.O., FERRARIO, M., GARZÓN CARDONA, J.E.,. KOCHA, B.P., ALONSO, C., LARA, R., 2015. Analysis of the hydrographic conditions and cyst beds in the San Jorge Gulf, Argentina, that favor dinoflagellate population development including toxigenic species and their toxins. Journal of Marine Systems 148: 86–100.

LASSUS,P., PRONIEWSKI,F., MAGGI,P., TRUQUET, P. BARDOUIL, M. 1993. Wind-induced toxic blooms of Dinophysis cf. Acuminata in the Antifer área (France). En: Toxic phytoplancton blooms in the sea. Eds. Smayda,T.J., Shimizu,Y . Elsevier Science Publishers. 519-523.

LELONG, A., GARET, H., SOUDANT,P., BATES,S. 2012. *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms. *Phycologia*, **51**:2, 168–216

LUIZÓN C., BENAVIDES H. , CARIGNAN M., ERIKSSON N. Y MONTOYA N.2015. Fitoplancton y toxicidad de moluscos bivalvos en el área del Canal de Beagle. Observaciones realizadas en el mes de diciembre 2013. Resumen *"IX Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar"* Ushuaia del 20 al 25 de septiembre de 2015

MACKENZIE, L., V. BEUZENBERG, P. HOLLAND, P. MCNABB, A. SELWOOD. 2004. Solid phase adsorption toxin tracking(SPATT): a new monitoring tool that simulates the biotoxincontamination of filter feeding bivalves. Toxicon 44, 901-918

MACKENZIE, L., SALAS, M. de, ADAMSON, J., BEUZEMBERG, V. 2004. The dinoflagellate genus *Alexandrium* (Halim) in New Zealand coastal waters: comparative morphology, toxicity and molecular genetics. Harmful Algae vol.3 (1), 71-92.

MARDONES, J.I, DORANTES-ARANDA, J.J., NICHOLS, P.D., HALLEGRAEFF, G.M., 2015. Fish gill damage by the dinoflagellate *Alexandrium catenella* from Chilean fjords: Synergistic action of ROS and PUFA. Harmful Algae 49, 40–49.

MARGALEF, R., 1978. Life forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. Ocenol. Acta 1, 493-509.

MOLINET C., NIKLITSCHEK E., SEGUEL M., DÍAZ P., (2010) Trends of natural accumulation and detoxification of paralytic shellfish poison in two bivalves from the Northwest Patagonian inland sea. Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 45, Nº2: 195-204

MONTOYA N., BENAVIDES H Estudio de la toxicidad producida por los florecimientos de microalgas nocivas en el Canal Beagle. Informe de Campaña N°4/2014

MONTOYA N. CARIGNAN M. BENAVIDES,H. 2012 Toxinas emergentes: spirolidos en mejillones, fitoplancton y en cultivo de *Alexandrium ostenfeldii* del Canal de Beagle.. Informe de investigación INIDEP Nº 116/2012

MONTOYA N., CARRETO J Informe sobre mortandad de aves marinas ocurrida en las costas de Chubut (noviembre de 2006), asociada a la presencia de toxinas paralizantes de moluscos. Informe técnico Nº 34/07

MONTOYA N., Detección de Toxinas Paralizantes de Moluscos (TPM) en una muestra de fitoplancton proveniente de Ushuaia Informe de asesoramiento y transferencia Nº 45/08

MONTOYA N.G., FULCO K.V, CARIGNAN M.O , CARRETO J.I. 2010. Toxin variability in cultured and natural populations of *Alexandrium tamarense* from southern South America – Evidences of diversity and environmental regulation Toxicon 56 1408–1418

MONTOYA N.G., NEGRI R., CARIGNAN M.O y. CARRETO J.I. 2008 Algunas características bioquímicas de la diatomea tóxica *Pseudo-nitzschia multiseries* aislada en el mar Argentino. In: Congresso Brasileiro De Ficologia, 11.; Simpósio Latino-Americano Sobre Algas Nocivas, Itajaí, Sc. Aplicações da Ficologia: anais. Rio de Janeiro: Museu Nacional. p.259-266. (Organização da Sociedade Brasileira de Ficologia.Série Livros, 30).

MONTOYA, N., BENAVIDES, H., CARIGNAN, M. 2015. Microalgas nocivas y eventos de toxicidad de moluscos bivalvos en el área de Canal Beagle, Tierra del fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur. Informe de avance sobre los resultados preliminares y actividades realizadas por el INIDEP en el marco del Acta Acuerdo Nº14. INIDEP, *Inf. Invest*_001/15, 25 pp.

NAGAI, S., NITSHITANI, G., TOMARU, Y., SAKIYAMA, S., KAMIYAMA, T. 2008. Predation by the toxic dinoflagellate Dinophysis fortii on the ciliate Myrionecta rubra and observation of sequestration of ciliate chloroplasts. J. Phycol. vol. 44: 4, 909–922.

NEGRI, R.M., MONTOYA, N.G., CARRETO, J.I. R. AKSELMAN & D. INZA 2004. *Pseudo-nitzschia australis, Mytilus edulis, Engraulis anchoita* and Domoic acid in the Argentine Sea. , En Steidinger, K. A., J. H. Landsberg,C. R. Tomas and G. A. Vargo (Ed.) Harmful Algae 2002. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography, and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. pp. 139-141.

OSHIMA, Y. 1995. Post-column derivatisation liquid chromatography method for paralytic shellfish toxins. *J. AOAC Int.* 78:528–532.

OKAICHI T. 1989. Red tide problems in the Seto Inland Sea, Japan. In: Okaichi T, Anderson DM, Nemoto T (eds) Red tides: biology, environmental science, and toxicology.Elsevier, New York, NY, p 137–142

PAREDES I., RIETJENS I.M.C.M., VIEITES J.M.,. CABADO A.G. 2011. Update of risk assessments of main marine biotoxins in the European Union. Toxicon, 58: 336-354.

PEPERZAK,L., SNOEIJER, G.J., DIJKEMA, R., GIESKES, W.W.C., JOORDENS, J., PEETERS, J.C.H., VRIELING, E.G., ZEVENBOOM, W. 1996. Development of Dinophysis acuminata Bloom in the river Rhine plume. En: Harmful and toxic algal blooms. Yasumoto, T Oshima, Y Fukuyo, Y. (Eds.). Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO.273-276.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 64 Secretaría Legislativa

PIZARRO, G., J. L. IRIARTE, V. MONTECINO, J. L. BLANCO, L. GUZMÁN. 2000. Distribución de la biomasa fitoplanctónica y productividad primaria máxima de fiordos y canales australes (47º-50º S) en octubre 1996. Cienc. Tecnol. Mar, 23: 25-48.

PIZARRO, G., MONTECINO, V., GUZMAN, L., MUÑOZ, V., CHACON, V., PACHECO, H., FRANGOPULOS, M., RETAMAL, L., ALARCON, C. 2005. Patrones anuales recurrentes del fitoplancton en fiordos y canales australes (43° - 53° S) en primavera y verano. Cienc. Tecnol. Mar. 28 (2), 63-83.

QUIROS, R., LUCHINI, L., WICKI, G., ERRAZTI, E. 1993. Evaluación e identificación de sitios aptos para el desarrollo de la acuicultura. Sobre la zona costera de la Isla Grande de tierra del Fuego y sus aguas interiores. Informe final para la Dirección de Recursos Naturales de la Prov. de Tierra del fuego Antártida e Islas del Atlántico sur. Consejo Federal de Inversiones de la República Argentina. Vol. I, II y II, 385 pp.

REID, P.C. 1997. Discharges from Hydroelectric Power Schemes as a Trigger for Marine Algal Blooms Marine Pollution Bulletin, 34:9, pp. 730-733.

SAGPYA. 2006. Capitulo XXIII Productos de la Pesca 23.24 Reglamento Sanitario de explotación y comercialización de moluscos y bivalvos vivos para consumo humano directo. Resolución SAGPYA 829/2006 .Decreto 4238/68

SIMONSEN, R. 1974. The diatom plankton of the Indian Ocean Expedition of R.V."Meteor" 1964-65. *Meteor Forschungsergeb.* (D. Biol.), vol.19, p.1-66.

SMAYDA, T.J., REYNOLDS, C.S. 2001 Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms J. Plank. Res. 23:5, 447–461.

SMAYDA, T.J. 2002. Turbulence, watermass stratification and harmful algal blooms: an alternative view and frontal zones as "pelagic seed banks". Harmful Algae, 1 95–112.

TOUZET, N., FRANCO, J.M., RAINE, R. 2008. Morphogenetic diversity and biotoxin composition of Alexandrium (Dinophyceae) in Irish coastal waters. Harmful Algae, 7, 782-797.

UTERMÖHL, H. 1958. Zur vervollkommung der quantitative phytoplankton-methodik. Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.. 9, 1-38.

VERA, P., S. AVARIA , P. MUÑOZ. 1996. Composición y distribución del fitoplancton de los fiordos adyacentes a Campos de Hielo Sur, Chile. Cienc. Tecnol. Mar, 19: 73-92.

WILSON, A. C, SASTRE V., HOFFMEYER M., ROWNTREE V.J, FIRE S., SANTINELLI N.H, DÍAZ OVEJERO S., D'AGOSTINO V., MARÓN C.F, DOUCETTE J.C., BROADWATER M.H, WZ. WANG , MONTOYA N., SEGER J. , ADLER F.R, SIRONI M. AND UHART M.M. 2016. Southern right whale (*Eubalaena australis*) calf mortality at Península Valdés, Argentina: are harmful algal blooms to blame? Marine Mammal Science.32, (2) 423-451

WRIGHT J.L.C., QUILLIAM M.A, CEMBELLA A:D. 1995. Methods for domoic acid, the Amnesic Shellfish Poisons. En: HALLEGRAEFF G.M., ANDERSON D.M., CEMBELLA A.D (Ed) Manual on Harmful Marine Microalgae, COI, Manual Guides N° 33, UNESCO, Paris, p 113-133.

ZAPATA, M., RODRIGUEZ, F., GARRIDO, J.L. 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing móbile phases. Marine Ecology Progress Series, 195, 29-45.

Anexo 1

Datos de temperatura, salinidad y densidad de cada una de las 14 estaciones seleccionadas en Ba. A. Brown. La información de cabecera incluye la fecha y hora, posición y profundidad de la estación.

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 65
Secretaría Legislativa

Estación 5

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle.
Posición: 67°33,292´ O - 54°52,302´ S
Profundidad: 22,1 m
Fecha / Hora: 10-12-201311:47
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.4087	29.7494	23.2329
0.5	7.4087	29.7494	23.2329
1	7.4073	29.7550	23.2375
1.5	7.3920	29.8273	23.2963
2	7.3005	30.1324	23.5480
2.5	7.2870	30.1685	23.5782
3	7.2727	30.2004	23.6051
3.5	7.2703	30.2136	23.6158
4	7.2683	30.2463	23.6418
4.5	7.2604	30.2910	23.6779
5	7.2575	30.3530	23.7271
5.5	7.2622	30.3976	23.7614
6	7.2847	30.4277	23.7822
6.5	7.2712	30.4373	23.7915
7	7.2109	30.4552	23.8134
7.5	7.1506	30.4970	23.8542
8	7.1259	30.5131	23.8701
8.5	7.0925	30.5478	23.9017
9	7.0783	30.5656	23.9175
9.5	7.0678	30.5735	23.9251
10	7.0631	30.5787	23.9298
10.5	7.0571	30.5803	23.9318
11	7.0406	30.5902	23.9418
11.5	7.0145	30.6051	23.9568
12	7.0164	30.6099	23.9604
12.5	7.0006	30.6220	23.9719
13	6.9315	30.6435	23.9977
13.5	6.8998	30.6669	24.0201
14	6.8938	30.6646	24.0191
14.5	6.8799	30.6757	24.0296
15	6.8615	30.6860	24.0401
15.5	6.8563	30.6853	24.0402
16	6.8497	30.6947	24.0484
16.5	6.8442	30.7152	24.0652
17	6.8417	30.7185	24.0682
17.5	6.8438	30.7164	24.0663
18	6.8364	30.7221	24.0717
18.5	6.8330	30.7232	24.0730
19	6.8309	30.7268	24.0761
19.5	6.8319	30.7316	24.0798
20	6.8290	30.7324	24.0807
20.5	6.8278	30.7371	24.0846
21	6.8285	30.7383	24.0854
21.5	6.8293	30.7410	24.0875
22	6.8295	30.7469	24.0921

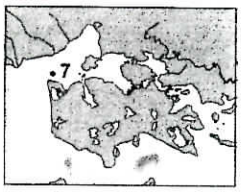
Estación 6

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle.
Posición: 67°32,769' O - 54°52,411' S
Profundidad: 24,0 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 12:07
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.4389	30.2436	23.6171
0.5	7.4389	30.2436	23.6171
1	7.4389	30.2436	23.6171
1.5	7.4324	30.2419	23.6166
2	7.4119	30.2638	23.6366
2.5	7.3480	30.3465	23.7100
3	7.2927	30.4293	23.7824
3.5	7.2573	30.4862	23.8317
4	7.2375	30.5240	23.8640
4.5	7.2235	30.5522	23.8880
5	7.2157	30.5724	23.9049
5.5	7.2128	30.5914	23.9203
6	7.2088	30.6091	23.9347
6.5	7.1955	30.6300	23.9529
7	7.1811	30.6439	23.9657
7.5	7.1703	30.6462	23.9689
8	7.1595	30.6446	23.9691
8.5	7.1514	30.6514	23.9755
9	7.1510	30.6557	23.9789
9.5	7.1497	30.6553	23.9788
10	7.1507	30.6541	23.9777
10.5	7.1426	30.6634	23.9861
11	7.0964	30.6629	23.9917
11.5	7.0694	30.6742	24.0041
12	7.0371	30.6830	24.0152
12.5	7.0234	30.6755	24.0110
13	6.9986	30.6840	24.0209
13.5	6.9934	30.6787	24.0174
14	6.9767	30.6800	24.0207
14.5	6.9519	30.6770	24.0215
15	6.9147	30.6906	24.0369
15.5	6.8618	30.7212	24.0678
16	6.8457	30.7150	24.0649
16.5	6.8338	30.7269	24.0757
17	6.8345	30.7320	24.0797
17.5	6.8299	30.7411	24.0874
18	6.8285	30.7455	24.0911
18.5	6.8272	30.7517	24.0962
19	6.8251	30.7544	24.0986
19.5	6.8238	30.7564	24.1003
20	6.8233	30.7587	24.1021
20.5	6.8232	30.7599	24.1031
21	6.8238	30.7617	24.1045
21.5	6.8245	30.7660	24.1077
22	6.8257	30.7695	24.1103
22.5	6.8270	30.7715	24.1118
23	6.8280	30.7718	24.1118
23.5	6.8283	30.7729	24.1127
24	6.8295	30.7759	24.1150

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

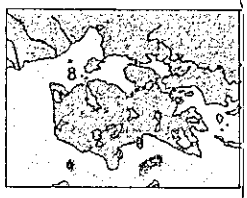
Poder Legislativo FOLIO Nº 66 Secretaría Legislativa



Estación 7

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°32,387´ O - 54°52,532´ S
Profundidad: 23,8 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 12:24
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.1952	30.6514	23.9698
0.5	7.1952	30.6514	23.9698
1	7.1894	30.6644	23.9808
1.5	7.1866	30.6668	23.9830
2	7.1878	30.6676	23.9835
2.5	7.1914	30.6683	23.9835
3	7.1925	30.6693	23.9842
3.5	7.1908	30.6679	23.9833
4	7.1840	30.6690	23.9850
4.5	7.1720	30.6696	23.9871
5	7.1688	30.6699	23.9878
5.5	7.1608	30.6696	23.9886
6	7.1509	30.6696	23.9899
6.5	7.1449	30.6686	23.9899
7	7.1373	30.6686	23.9908
7.5	7.1224	30.6696	23.9935
8	7.1420	30.6715	23.9925
8.5	7.1315	30.6668	23.9902
9	7.0489	30.6721	24.0050
9.5	7.0028	30.6834	24.0199
10	6.9525	30.6906	24.0320
10.5	6.9072	30.6930	24.0397
11	6.8632	30.7110	24.0595
11.5	6.8558	30.7150	24.0636
12	6.8516	30.7231	24.0705
12.5	6.8440	30.7302	24.0771
13	6.8396	30.7336	24.0803
13.5	6.8373	30.7355	24.0821
14	6.8380	30.7386	24.0845
14.5	6.8369	30.7428	24.0879
15	6.8352	30.7468	24.0913
15.5	6.8342	30.7479	24.0923
16	6.8337	30.7512	24.0950
16.5	6.8329	30.7537	24.0970
17	6.8316	30.7535	24.0971
17.5	6.8320	30.7543	24.0976
18	6.8300	30.7552	24.0985
18.5	6.8286	30.7568	24.1000
19	6.8274	30.7597	24.1024
19.5	6.8266	30.7620	24.1043
20	6.8250	30.7616	24.1042
20.5	6.8245	30.7641	24.1063
21	6.8254	30.7641	24.1062
21.5	6.8241	30.7642	24.1063
22	6.8237	30.7649	24.1070
22.5	6.8244	30.7658	24.1076
23	6.8261	30.7679	24.1090
23.5	6.8282	30.7709	24.1111



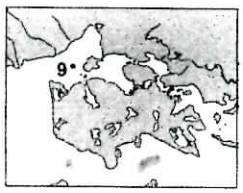
Estación 8

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°31,740' O - 54°52,230' S
Profundidad: 20,0 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 12:55
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.4250	30.4253	23.7617
0.5	7.4250	30.4253	23.7617
1	7.4250	30.4253	23.7617
1.5	7.4305	30.4236	23.7597
2	7.4319	30.4207	23.7572
2.5	7.4303	30.4228	23.7591
3	7.4293	30.4223	23.7588
3.5	7.4259	30.4237	23.7603
4	7.3990	30.4432	23.7792
4.5	7.3709	30.4624	23.7980
5	7.3503	30.4807	23.8152
5.5	7.3315	30.5001	23.8328
6	7.3152	30.5210	23.8514
6.5	7.2853	30.5633	23.8887
7	7.2489	30.5958	23.9190
7.5	7.2355	30.6040	23.9272
8	7.2232	30.6118	23.9349
8.5	7.2196	30.6053	23.9303
9	7.2113	30.6046	23.9309
9.5	7.1938	30.6110	23.9382
10	7.1933	30.6072	23.9352
10.5	7.1887	30.6066	23.9354
11	7.1702	30.6044	23.9361
11.5	7.1644	30.6012	23.9343
12	7.1565	30.5994	23.9339
12.5	7.1827	30.6006	23.9315
13	7.1810	30.5990	23.9304
13.5	7.1818	30.6012	23.9320
14	7.1754	30.6077	23.9380
14.5	7.1600	30.6078	23.9401
15	7.1262	30.6064	23.9433
15.5	7.0855	30.6152	23.9556
16	7.0184	30.6353	23.9800
16.5	6.9094	30.6873	24.0350
17	6.8608	30.7138	24.0621
17.5	6.8392	30.7268	24.0750
18	6.8258	30.7375	24.0851
18.5	6.8218	30.7411	24.0885
19	6.8192	30.7420	24.0895
19.5	6.8200	30.7430	24.0902
20	6.8214	30.7453	24.0919

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 67
Secretaría Legislativa



Estación **9**

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°31.545′ O - 54°52.354′ S
Profundidad: 21,6 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 13:12
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.3091	30.5679	23.8892
0.5	7.3091	30.5679	23.8892
1	7.3068	30.5975	23.9127
1.5	7.3037	30.6007	23.9157
2	7.3057	30.6017	23.9161
2.5	7.3047	30.6022	23.9167
3	7.3034	30.6015	23.9163
3.5	7.3025	30.6023	23.9170
4	7.3009	30.6045	23.9190
4.5	7.3008	30.6028	23.9176
5	7.2974	30.6036	23.9188
5.5	7.2859	30.6027	23.9195
6	7.2882	30.6022	23.9189
6.5	7.2922	30.6032	23.9191
7	7.2894	30.6029	23.9192
7.5	7.2920	30.6028	23.9188
8	7.2946	30.6019	23.9177
8.5	7.2944	30.6037	23.9192
9	7.2999	30.6038	23.9185
9.5	7.2876	30.6049	23.9211
10	7.2435	30.6011	23.9238
10.5	7.2342	30.5998	23.9240
11	7.2326	30.6008	23.9251
11.5	7.2406	30.6015	23.9245
12	7.2460	30.6012	23.9236
12.5	7.2507	30.6020	23.9236
13	7.2519	30.6030	23.9243
13.5	7.2599	30.6040	23.9240
14	7.2677	30.6029	23.9221
14.5	7.2678	30.6040	23.9229
15	7.2344	30.6015	23.9254
15.5	7.2359	30.6013	23.9250
16	7.2182	30.6012	23.9273
16.5	7.1945	30.6028	23.9316
17	7.1788	30.6041	23.9347
17.5	7.1481	30.6052	23.9396
18	7.0748	30.6323	23.9705
18.5	7.0365	30.6506	23.9898
19	6.9953	30.6616	24.0038
19.5	6.9005	30.7019	24.0476
20	6.8507	30.7205	24.0686
20.5	6.8343	30.7291	24.0775
21	6.8287	30.7327	24.0810
21.5	6.8257	30.7351	24.0833

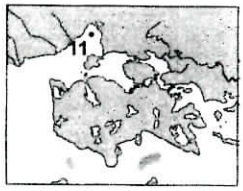
Estación 10

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°31.659' O - 54°52.541' S
Profundidad: 17,8 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 13:25
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.1907	30.6720	23.9865
0.5	7.1907	30.6720	23.9865
1	7.1907	30.6720	23.9865
1.5	7.2009	30.6720	23.9852
2	7.1991	30.6800	23.9917
2.5	7.1969	30.6844	23.9955
3	7.2002	30.6833	23.9941
3.5	7.2025	30.6836	23.9941
4	7.2024	30.6844	23.9948
4.5	7.1974	30.6864	23.9970
5	7.1911	30.6876	23.9987
5.5	7.1925	30.6886	23.9994
6	7.1886	30.6896	24.0006
6.5	7.1894	30.6898	24.0007
7	7.1918	30.6894	24.0001
7.5	7.1863	30.6900	24.0013
8	7.1658	30.6920	24.0055
8.5	7.1709	30.6944	24.0067
9	7.1725	30.6940	24.0062
9.5	7.1561	30.6894	24.0047
10	7.1455	30.6902	24.0067
10.5	7.1430	30.6917	24.0083
11	7.1452	30.6917	24.0080
11.5	7.1534	30.6917	24.0069
12	7.1346	30.6859	24.0048
12.5	7.1172	30.6881	24.0088
13	7.1190	30.6908	24.0107
13.5	7.1314	30.6902	24.0086
14	7.1051	30.6910	24.0127
14.5	7.1025	30.6899	24.0121
15	7.1029	30.6871	24.0098
15.5	7.0866	30.6861	24.0112
16	7.0672	30.6896	24.0165
16.5	7.0603	30.6901	24.0178
17	7.0502	30.6928	24.0212
17.5	7.0285	30.6943	24.0252

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 68
Secretaría Legislativa



Estación **11**

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°30.619´ O - 54°51.694´ S
Profundidad: 21,3 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 13:42
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.6862	30.3192	23.6433
0.5	7.6862	30.3192	23.6433
1	7.6862	30.3192	23.6433
1.5	7.6632	30.3675	23.6844
2	7.6526	30.3687	23.6867
2.5	7.6447	30.3673	23.6866
3	7.6306	30.3726	23.6927
3.5	7.6158	30.3747	23.6964
4	7.5979	30.3785	23.7018
4.5	7.5879	30.3769	23.7019
5	7.5792	30.3807	23.7061
5.5	7.5569	30.3831	23.7110
6	7.5537	30.3831	23.7113
6.5	7.5061	30.4001	23.7311
7	7.4545	30.4163	23.7507
7.5	7.3899	30.4226	23.7642
8	7.3192	30.4488	23.7942
8.5	7.2500	30.4688	23.8190
9	7.0650	30.5781	23.9291
9.5	6.9137	30.6283	23.9880
10	6.9084	30.6228	23.9844
10.5	6.8960	30.6293	23.9911
11	6.8888	30.6377	23.9986
11.5	6.8869	30.6384	23.9994
12	6.8832	30.6432	24.0036
12.5	6.8773	30.6491	24.0090
13	6.8669	30.6548	24.0149
13.5	6.8644	30.6543	24.0147
14	6.8628	30.6556	24.0160
14.5	6.8618	30.6570	24.0172
15	6.8581	30.6608	24.0207
15.5	6.8548	30.6668	24.0258
16	6.8516	30.6714	24.0298
16.5	6.8480	30.6763	24.0342
17	6.8477	30.6779	24.0354
17.5	6.8461	30.6792	24.0367
18	6.8446	30.6811	24.0384
18.5	6.8436	30.6833	24.0402
19	6.8428	30.6855	24.0420
19.5	6.8420	30.6918	24.0471
20	6.8416	30.6954	24.0500
20.5	6.8421	30.6960	24.0504
21	6.8447	30.6953	24.0496

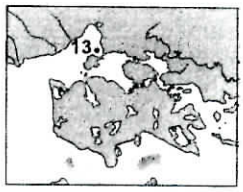
Estación **12**

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°30.411' O - 54°51.858' S
Profundidad: 15,3 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 14:01
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.6153	30.4278	23.7382
0.5	7.6153	30.4278	23.7382
1	7.6046	30.4350	23.7452
1.5	7.6048	30.4378	23.7474
2	7.6177	30.4363	23.7445
2.5	7.6232	30.4358	23.7434
3	7.6181	30.4363	23.7444
3.5	7.6111	30.4375	23.7463
4	7.6057	30.4373	23.7469
4.5	7.5907	30.4410	23.7518
5	7.5796	30.4462	23.7575
5.5	7.5692	30.4488	23.7608
6	7.5663	30.4496	23.7618
6.5	7.5532	30.4554	23.7682
7	7.5006	30.4616	23.7801
7.5	7.2985	30.5017	23.8385
8	7.1220	30.5360	23.8886
8.5	7.0108	30.5696	23.9294
9	6.9852	30.5789	23.9400
9.5	6.9706	30.5831	23.9451
10	6.9664	30.5859	23.9479
10.5	6.9653	30.5892	23.9506
11	6.9643	30.5881	23.9499
11.5	6.9617	30.5894	23.9513
12	6.9621	30.5888	23.9507
12.5	6.9617	30.5904	23.9521
13	6.9597	30.5919	23.9535
13.5	6.9454	30.5994	23.9612
14	6.9351	30.6060	23.9677
14.5	6.9201	30.6131	23.9752
15	6.9105	30.6198	23.9818

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo FOLIO Nº 69 Secretaría Legislativa



Estación **13**

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°30.297´ O - 54°51.964´ S
Profundidad: 13,7 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 14:18
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	7.6414	30.4522	23.7537
0.5	7.6414	30.4522	23.7537
1	7.6414	30.4522	23.7537
1.5	7.6424	30.4479	23.7502
2	7.6146	30.4514	23.7568
2.5	7.6048	30.4557	23.7615
3	7.6036	30.4556	23,7616
3.5	7.5933	30.4585	23.7652
4	7.5783	30.4631	23.7709
4.5	7.5463	30.4762	23.7854
5	7.5204	30.4875	23.7978
5.5	7.5047	30.4934	23.8045
6	7.4918	30.4957	23.8081
6.5	7.4722	30.4976	23.8122
7	7.3967	30.5054	23.8284
7.5	7.3457	30.5150	23.8428
8	7.2644	30.5244	23.8609
8.5	7.1157	30.5430	23.8949
9	6.9919	30.5769	23.9376
9.5	6.9776	30.5838	23.9448
10	6.9682	30.5848	23.9468
10.5	6.9585	30.5874	23.9501
11	6.9467	30.5919	23.9552
11.5	6.9353	30.5968	23.9605
12	6.9287	30.6004	23.9641
12.5	6.9156	30.6126	23.9754
13	6.9055	30.6244	23.9860
13.5	6.8934	30.6377	23.9981

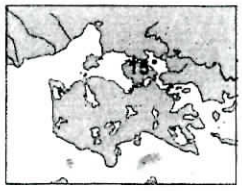
Estación 14

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°27.297' O - 54°52.128' S
Profundidad: 1,6 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 16:57
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	8.9560	30.1554	23.3338
0.5	8.9560	30.1554	23.3338
1	8.9560	30.1554	23.3338
1.5	8.9429	30.1666	23.3445

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 10
Secretaría Legislativa



Estación **15**

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°27.058´ O - 54°52.235´ S
Posición: 3,7 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 16:59
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	8.8076	30.2192	23.4058
0.5	8.8076	30.2192	23.4058
1	8.8076	30.2192	23.4058
1.5	8.7955	30.2251	23.4122
2	8.8140	30.2364	23.4182
2.5	8.7550	30.2373	23.4277
3	8.7264	30.2463	23.4390
3.5	8.7469	30.2507	23.4394

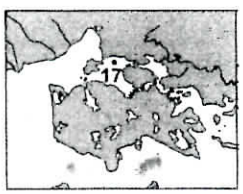
Estación 16

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°26.849' O - 54°52.425' S
Profundidad: 5,1 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 17:05
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	8.4634	30.2515	23.4814
0.5	8.4634	30.2515	23.4814
1	8.4634	30.2515	23.4814
1.5	8.4604	30.2622	23.4902
2	8.4607	30.2689	23.4953
2.5	8.4607	30.2712	23.4972
3	8.4614	30.2502	23.4806
3.5	8.4654	30.2164	23.4536
4	8.4625	30.2662	23.4930
4.5	8.4636	30.2741	23.4991
5	8.4748	30.2737	23.4971

FIEL DEL ORIGINAL

Poder Legislativo
FOLIO
Nº 11/14
Secretaría Legislativa



Estación **17**

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°29.302´ O - 54°52.172´ S
Profundidad: 7,0 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 17:17
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	8.5268	30.1545	23.3962
0.5	8.5268	30.1545	23.3962
1	8.5241	30.2848	23.4986
1.5	8.5186	30.3010	23.5121
2	8.5160	30.3004	23.5120
2.5	8.5036	30.3044	23.5170
3	8.5012	30.3073	23.5196
3.5	8.4995	30.3097	23.5217
4	8.4957	30.3123	23.5243
4.5	8.4825	30.3129	23.5266
5	8.4747	30.3184	23.5321
5.5	8.4722	30.3204	23.5341
6	8.4738	30.3168	23.5310
6.5	8.4754	30.3184	23.5320
7	8.4765	30.3199	23.5331

Estación 18

Lugar: Bahía A. Brown – Canal Beagle
Posición: 67°29.220' O - 54°52.477' S
Profundidad: 7,0 m
Fecha / Hora: 10-12-2013 17:30
Instrumento: Citadel CTD-NV

Presión	Temperat.	Salinidad	Densidad
0	8.3008	30.3392	23.5734
0.5	8.3008	30.3392	23.5734
1	8.3047	30.3431	23.5759
1.5	8.3164	30.3453	23.5759
2	8.3286	30.3485	23.5767
2.5	8.3395	30.3483	23.5750
3	8.3354	30.3552	23.5809
3.5	8.3319	30.3524	23.5793
4	8.3363	30.3488	23.5758
4.5	8.3338	30.3507	23.5777
5	8.3300	30.3527	23.5798
5.5	8.3272	30.3527	23.5802
6	8.3290	30.3534	23.5805
6.5	8.3304	30.3536	23.5804
7	8.3298	30.3527	23.5798