

## TOXINA PARALIZANTE DE MOLUSCOS (TPM) EN BIVALVOS PATAGÓNICOS DE INTERÉS COMERCIAL

Jésica Lis Tobke

jesica.tobke@gmail.com

Doctorado en Ciencias Biológicas

Directora: Dra. Mónica Noemí Gil

Co-directora: Dra. Erica Giarratano

Lugar de realización: Laboratorio de Química Ambiental y Ecotoxicología (LAQUIAE)

Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR-CONICET), Centro Nacional Patagónico, CCT CONICET- CENPAT

Fecha de la defensa: 30 de mayo de 2019

### RESUMEN

En la provincia del Chubut, la marisquería de bivalvos sostiene un sistema productivo artesanal de gran valor social, enfocado principalmente en dos especies, la vieira tehuelche (*Aequipecten tehuelchus*) y el mejillón (*Mytilus platensis*). La inocuidad de los organismos filtradores se ve amenazada por la presencia estacional y permanencia variable de Floraciones Algales Nocivas (FAN) productoras de toxinas. Los bivalvos, al alimentarse de las microalgas tóxicas, acumulan y biomagnifican el potencial nocivo de las mismas. Entre las biotoxinas las Toxinas Paralizantes de Moluscos (TPM) significan el mayor riesgo para la salud humana, debido a su potencial letalidad por consumo de bivalvos contaminados. Con el fin de proteger a la población, el Código Alimentario Argentino normalizó el nivel de seguridad (NS) de TPM en organismos en  $\leq 800 \mu\text{g eq.STX kg}^{-1}$  en los tejidos blandos. Este valor es utilizado como base para establecer vedas para la comercialización y consumo de productos marinos. Hasta el momento no se han hecho en la Argentina estudios en condiciones controladas de laboratorio que permitan dilucidar las principales características de la cinética de las TPM en los bivalvos. Por ello, el objetivo general de esta tesis fue analizar de forma *ex situ*, cualitativa y cuantitativamente la intoxicación y depuración de TPM en bivalvos patagónicos. En primera instancia, se realizaron experimentos para lograr el mantenimiento de bivalvos en condiciones óptimas de cultivo. Se midieron la tasa de excreción del mejillón *M. platensis* y la tasa de acumulación de productos nitrogenados excretados por la vieira y el mejillón en sistemas cerrados. Además, se compararon los métodos de biofiltración por macroalgas (*Undaria pinnatifida* y *Ulva* spp.) y bacterias para la remoción de componentes nitrogenados en acuarios. De tales experimentos se concluyó que para el tipo de sistema de recirculación utilizado para la depuración *ex situ* de TPM en bivalvos, el biofiltro bacteriano responde eficientemente a las demandas de calidad de agua analizadas. Como segunda etapa se evaluaron cualitativa y cuantitativamente las TPM utilizando para ello el método de Bioensayo en Ratón (BR) y el análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución con derivatización post columna y Detección de Fluorescencia (HPLC-FLD) en bivalvos. A raíz de no

detectarse TPM en vieiras durante el desarrollo de la presente tesis, no pudieron realizarse depuraciones con este bivalvo. Se realizaron 3 depuraciones de mejillones (*M. platensis*) naturalmente intoxicados en condiciones *ex situ* sin ofrecimiento de alimento, evitándose la re-intoxicación por ingesta de fitoplancton nocivo evidenciado en el medio natural. En dos de las depuraciones se observó una reducción exponencial de las TPM en más del 70% respecto a la concentración inicial. Los tiempos y forma de depuración *ex situ* se compararon con la evolución de las TPM de mejillones *in situ* y se registraron los diferentes tiempos de eliminación y metabolización de varios de los análogos constituyentes de las TPM. Por otra parte, se realizó la intoxicación experimental de *M. platensis* alimentado con *Alexandrium tamarense/catenella*, dinoflagelado productor de TPM de las costas del Chubut. Se observó que, a pesar de la baja concentración de exposición, luego de 25 días de intoxicación los mejillones fueron capaces de acumular las toxinas. El ensayo fue repetido para la vieira tehuelche de forma exploratoria, considerando solo la toxicidad total. En el estudio de las TPM también se llevó a cabo la evaluación del quitosano como facilitador de la depuración de bivalvos. Para ello, se realizaron experimentos de intoxicación y depuración del mejillón *Mytilus chilensis* alimentado con *Alexandrium catenella* evaluando, además, parámetros fisiológicos relacionados a la asimilación de las microalgas toxígenas. Se concluyó que los mejillones fueron relativamente sensibles a la presencia de *A. catenella* y que, para las condiciones experimentales ensayadas, la presencia de quitosano en el agua de mar no ofrecería mejores condiciones de depuración para los mejillones. Como tercera y última instancia, se evaluó el efecto del mantenimiento *ex situ* sin ofrecimiento de alimento, en la condición y estado de salud de los mejillones (*M. platensis*) y vieiras tehuelches. Utilizando 8 índices de condición, la cuantificación de componentes bioquímicos generales y la composición de ácidos grasos, no se logró reunir suficiente evidencia que indicara un efecto en mejillones consecuente al periodo de inanición. Contrario a ello, las vieiras fueron más sensibles ya que mostraron un consumo de reservas nutricionales. Mediante lo estudiado en la presente tesis se amplió el conocimiento sobre los parámetros de cultivo de bivalvos de la región del Chubut y del país. Se logró contribuir a la comprensión de las TPM, principalmente aquello relativo a su composición en el dinoflagelado toxígeno, sus biotransformaciones y acumulación en los tejidos de los bivalvos y la dinámica de depuración en los mismos. Además, se avanzó en la búsqueda de estrategias paliativas ante los periodos prolongados de vedas, tales como la posibilidad de mantener bivalvos de forma *ex situ* y la adición de facilitadores para la depuración.

## ABSTRACT

### **Paralytic Shellfish Toxins (PST) in commercial importance bivalves from Patagonian**

The Paralytic Shellfish Toxins (PST) represent a risk to human health because of their potential lethality by the ingestion of polluted bivalves. The central objective of this thesis was to analyze *ex situ*, qualitatively and quantitatively the intoxication and depuration of PST by Patagonian bivalves. Firstly, experiments were carried out to achieve the maintenance of bivalves under optimal culture conditions. Secondly, PST was evaluated using the Mouse Bioassay method and the High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection (HPLC-FLD) in bivalves. In two depurations of naturally intoxicated mussels in *ex situ* conditions and without offering food, an exponential reduction of the PST of more than 70% was observed. During the intoxication of *M. platensis* fed with *Alexandrium tamarense/catenella*, mussels could accumulate toxins after 25 days of the experiment, without exceeding the safety levels. Also, the chitosan was evaluated as a facilitator of bivalve clearance. For this purpose, intoxication and depuration experiments with *Mytilus chilensis* fed with *Alexandrium catenella* were performed. The results showed that the chitosan in seawater did not improve the depuration process of bivalves under the experimental conditions assayed. Thirdly and finally, the effect of the *ex situ* maintenance without offering of food was evaluated in the condition and health of bivalves. It was possible through this work to contribute to the understanding of the PST produced by *A. tamarense/catenella*, mainly that related to their composition in the dinoflagellate, their biotransformations and accumulation in the tissues of the bivalves, and the dynamics of depuration on them.