

# Manejo de cultivos bivalvos contaminados con marea roja

**Miriam Seguel**

*Centro Regional de Análisis de Recursos y Medio Ambiente*

*Universidad Austral de Chile*

*Puerto Montt, Chile*

*E-mail: mseguel@uach.cl*

**Seguel, M.** 2008. Manejo de cultivos bivalvos contaminados con marea roja. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*. No. 12. Roma, FAO. pp. 309–316.

## RESUMEN

En el sur de Chile se han registrado tres tipos de toxinas: el veneno paralizante de los Mariscos (VPM), las toxinas lipofílicas (VDM) y el veneno amnésico de los mariscos (VAM). Las toxinas paralizantes y lipofílicas son las que han causado un mayor impacto en la Salud pública y en la económica de estas regiones. La toxina amnésica se presenta en ciertas áreas geográficas y generalmente con valores inferiores al límite permisible para el consumo humano. Los primeros eventos tóxicos de toxina paralizante ocurrieron a principios de la década de los 70 en la región de Magallanes, extendiéndose geográficamente hacia el norte en las décadas de los 90 y 2000. Es así como en el año 2002 se registra el primer evento tóxico de VPM en la Región de Los Lagos, área con el mayor desarrollo de la mitilicultura, llegando a valores de 29.544  $\mu\text{g}$  de STX eq100  $\text{g}^{-1}$  en mariscos provenientes de Quellón (Isla de Chiloé, Chile), produciendo alrededor de 60 intoxicados y una persona fallecida. En el año 2006 se registra un segundo evento pero de menor magnitud, con valores de 600  $\mu\text{g}$  de STX eq100  $\text{g}^{-1}$ . Actualmente, se realiza un programa de monitoreo coordinado en las tres regiones más australes de Chile, el cual es conducido por el Instituto de Fomento Pesquero en coordinación con los SEREMI (Secretaría Regional Ministerial) de Salud de cada una de las regiones. Este programa incluye 151 estaciones donde se realizan análisis de toxinas, fitoplancton y variables ambientales. Existe un segundo monitoreo asociado al Programa de Sanidad de Moluscos Bivalvos, en el cual se certifica los sitios de extracción. Este programa es de responsabilidad de los productores.

## ABSTRACT

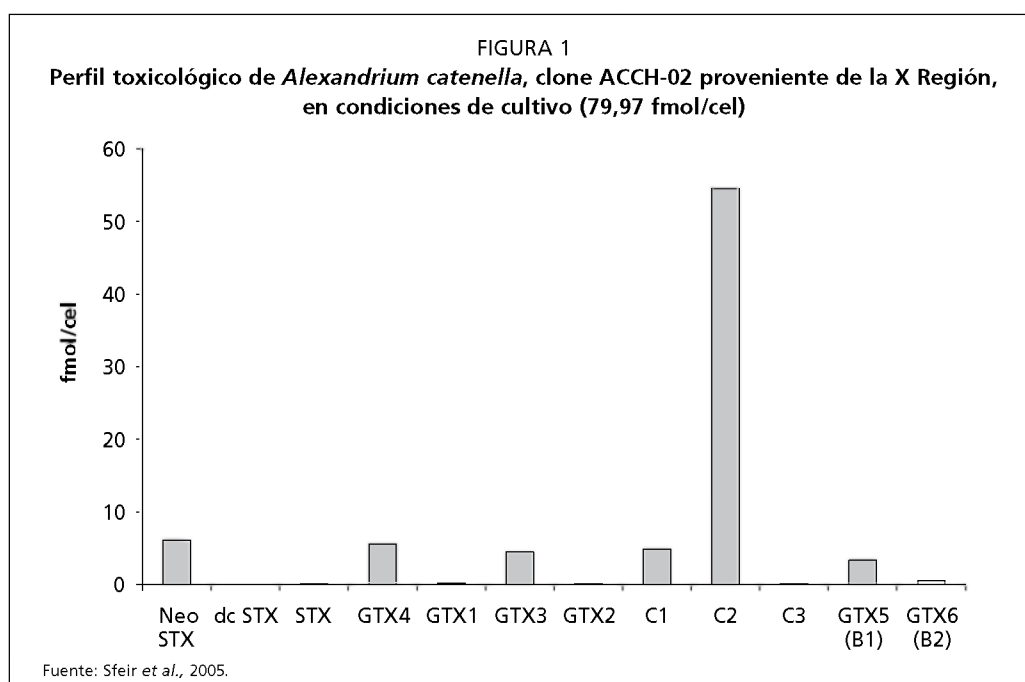
Three types of toxins have been recorded in southern Chile: paralytic shellfish poisoning (PSP), lipophilic shellfish toxins or diarrhetic shellfish poisoning (DSP), and amnesic shellfish poisoning (ASP). The paralytic and lipophilic toxins have caused serious consequences to public health and the local economy. The amnesic toxin is found in certain geographic areas and is generally below the permissible limit for human consumption. The first toxic events involving the paralytic toxin occurred at the beginning of the 1970s in the Magallanes Region, stretching northward in the 1990s and 2000s. In 2002, the

first toxic PSP event was recorded in the Los Lagos Region, the area with the greatest development of bivalve farming; shellfish coming from Quellón (Chiloé Island, Chile) were found to have up to 29.544  $\mu\text{g}$  STX eq. 100  $\text{g}^{-1}$ . This inflicted approximately 60 individuals and caused one death. In 2006, a second, milder event was recorded, with values of 600  $\mu\text{g}$  STX eq. 100  $\text{g}^{-1}$ . At present, a coordinated monitoring programme between the Instituto de Fomento Pesquero (Institute for Fishery Development) and the Regional Ministerial Health Office for each region is being run in the three southernmost regions of Chile. This programme analyzes toxins, phytoplankton and environmental variables at 151 stations. A second monitoring programme associated with the Programa de Sanidad de Moluscos Bivalvos (PSMB; Bivalve Mollusc Health Programme) certifies the harvesting sites. This latter programme is under the sole responsibility of the local shellfish farmers.

## RESULTADOS

En Chile existen tres grupos de toxinas: el veneno paralizante de los mariscos, toxinas lipofílicas (VDM) y el veneno amnésico de los mariscos. De estas tres toxinas el veneno paralizante y las toxinas lipofílicas son las que han producido un mayor impacto en la salud pública y en la economía de las regiones.

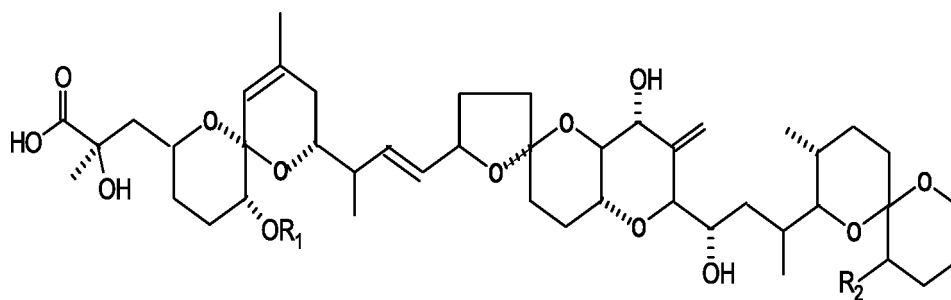
Las toxinas que conforman el Veneno Paralizante de los Mariscos están constituidas por un núcleo tetrahidropurínico, todas ellas análogas a la saxitoxina (STX). Se han descrito más de 26 derivados de la STX (Oshima, 1995). Estas toxinas se pueden dividir en tres grupos dependiendo de la carga neta que presentan a pH neutro. El grupo de las saxitoxinas (STX) que tienen una carga neta 2 (STX, neo STX, dc STX, dcneoSTX), el grupo de las gonyaulatoxinas (GTXs), constituidos por las GTXs1-6, B1=GTX5 y B2=GTX6, y las decarbamoil-gonyaulatoxinas (dcGTXs) las cuales presentan una carga neta 1, y finalmente las sulfocarbamoil-saxitoxina (C1-C4), las cuales presentan una carga neta cero (Lagos, 2002). La especie productora de estas toxinas es el dinoflagelado *Alexandrium catenella* (Lagos, 1998; Sfeir *et al.*, 2005). La Figura 1 muestra el perfil toxicológico de la cepa ACCH-02 proveniente de la X región, donde se observa una predominancia de la toxina C2 (68%), seguida por la GTX-4 (7%) (Sfeir *et al.*, 2005). El primer registro del veneno paralizante se produjo en el año 1972 en la región de Magallanes. Posteriormente se presentaron nuevos episodios tóxicos en 1981, 1989 y



desde 1991 hasta la fecha (Guzmán *et al.*, 2002). En el año 1992, se observa por primera vez el dinoflagelado *Alexandrium catenella* en las aguas de la XI región. Desde el año 1996, se han producidos eventos tóxicos con una periodicidad de dos años, donde las mayores toxicidades se han registrado en 1996, 1998, 2000 y 2002. La floración del año 2002, se origina en la zona norte de la XI región y se expande hasta el paralelo 42° 10' S (Tabla 1) (Molinet *et al.*, 2003), alcanzando el área de mayor desarrollo de los cultivos de los mitílidos en la isla de Chiloé. Producto de este último evento, se registraron 67 intoxicados y un muerto (SEREMI X región). Los valores máximos de toxicidad en *Mytilus chilensis* alcanzaron los 29 544 µg de STX eq100 g<sup>-1</sup> en Quellón (isla de Chiloé). En el año 2006, se registra un nuevo evento que afecta el sur de la isla de Chiloé, pero de menor magnitud, con valores que no superan los 600 µg de STX eq100 g<sup>-1</sup>. Se destaca que los valores máximos de toxicidad a nivel mundial se han observado lo largo de las costa de América del sur, con valores de 127 x 10<sup>3</sup> µg de STX eq100 g<sup>-1</sup> en choritos provenientes del canal Beagle (Benavides *et al.*, 1995) y de 107 x 10<sup>3</sup> µg de STX eq100 g<sup>-1</sup> en Puerto Aguirre (XI región) (SEREMI-XI Región).

Las toxinas del VDM o toxinas lipofílicas incluyen un grupo de compuestos poliéteres liposolubles y de elevado peso molecular que difieren en estructura química y actividad biológica. El primer grupo incluye el Ácido Okadaico (AO), Dinofisistoxina 1 (DTX-1), Dinofisistoxina 2 (DTX-2) y la Dinofisistoxina 3 (DTX-3) (Figura 2). Los otros dos grupos son lactosas polietéreas cíclicas conocidas como pectenotoxinas (Yasumoto *et al.*, 1985) y los poliéteres disulfatados como las yessotoxinas (Murata *et al.*, 1987). En los moluscos chilenos se ha demostrado la presencia de DTX-1 en la XI y XII Región (García *et al.*, 2004, Uribe *et al.*, 2001), DTX-1 y DTX-3 en la X Región (García *et al.*, 2004; García *et al.*, 2005), pectenotoxinas PTX-2 (Blanco *et al.*, 2007) en la III Región y yessotoxinas en sur de Chile (Zhao *et al.*, 1993). El dinoflagelado *Dinophysis acuta* es la principal especie responsable de los eventos tóxicos en la región austral de Chile y *Dinophysis acuminata* es la fuente de origen de las pectenotoxinas en el norte (III y IV región) y DTX-1 en la XII región. El dinoflagelado *Protoceratium reticulatum* podría ser la fuente de yessotoxinas en la región austral (Tabla 1). Se ha demostrado que esta especie produce yessotoxinas en Nueva Zelanda (Satake *et al.*, 1997) y en Japón (Satake *et al.*, 1999 citado en Fernández *et al.*, 2002). La toxina DTX-3 no ha sido encontrada en muestras de fitoplancton, por lo que se ha postulado que ella es producto del metabolismo de los moluscos (García *et al.*, 2005), el AO, DTX-1 o DTX2 pueden ser transformada a DTX-3 (Quilliam, 2003). Los primeros registros de intoxicaciones por VDM aparecen en 1966, en el fiordo de Puyuhuapi (44° 35' S) en la XI región y el año 1970 en el Estuario de Reloncaví (41° 31' S), con una intoxicación

FIGURA 2  
 Toxinas del Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM). Se ha detectado AO, DTX-1 y DTX-3 en los mariscos provenientes del sur de Chile



Acido Okadaico	(AO)	R1= H	R2=H
Dinofisistoxina -1	DTX-1	R1= H	R2= C <sub>3</sub> HR3=CH <sub>3</sub>
Dinofisistoxina -2	DTX-2	R1= H	R2= C <sub>3</sub> HR3=H
Dinofisistoxina -3	DTX-3	R1= Acyl	R2= C <sub>3</sub> HR3=CH <sub>3</sub>

CUADRO 1

**Distribución geográfica de las toxinas marinas presentes en Chile**

Microalga	Toxinas	Distribución geográfica	Referencias
<i>Alexandrium catenella</i>	Veneno Paralizante de los Mariscos (VPM)	55° – 42° 10' Lat. S.	Guzmán <i>et al.</i> , 2002 Molinet <i>et al.</i> , 2003
<i>Dinophysis acuta</i>	Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM).	41° 27' – 53° 19' Lat. S.	Lembeye 1994 Uribe <i>et al.</i> , 2001 García <i>et al.</i> , 2004, García <i>et al.</i> , 2005
<i>Dinophysis acuminata</i>	PTX-2	27° y 30° Lat. S.	Blanco <i>et al.</i> , 2007
	DTX-1	53° Lat. S (XII región)	Uribe <i>et al.</i> , 2001
<i>Pseudo-nitzschia australis</i>	Veneno Amnésico de los Mariscos (VAM)	27 y 30° Lat.S	Suarez <i>et al.</i> , 2002
		41° 45' – 43 ° Lat. S	
		48 – 49° Lat. S	

masiva de 380 personas. Posteriormente se registran nuevos eventos en los años 1979, 1983 1985 y 2005 en el estuario de Reloncaví y en forma permanente en los canales y fiordos de la XI región (Seguel, Tocornal y Sfeir, 2005).

En el Veneno Amnésico de los Mariscos (VAM), el principal componente es el Ácido Domoico (AD), un aminoácido que pertenece al grupo de los Kainatos. La toxina amnésica se ha detectado en mariscos provenientes de la III, IV y X región (Suárez *et al.*, 2002) (Cuadro 1). La microalga asociada a la producción de esta toxina es la diatomea *Pseudo-nitzschia australis*. Esta especie tiene un amplio rango de distribución geográfica desde 18° hasta 56° 19' S (Rivera, 1985). Los eventos de mayor importancia son los 1999 en la IV región donde el valor máximo alcanzó a los 62 µg AD g<sup>-1</sup>, y en el año 2000 en Chiloé, con un valor máximo de 330 µg g<sup>-1</sup>. Desde del 2001, se presenta todos los años en Chiloé, pero con valores bajos, solo en algunas ocasiones se ha producido el cierre temporales de áreas de cultivo. No existen antecedentes de intoxicaciones asociadas a la toxina amnésica.

Estos eventos tóxicos han obligado a nuestro país a implementar una serie de medidas de mitigación para evitar los problemas de salud pública y mantener e incluso incrementar las exportaciones de moluscos bivalvos que son susceptibles de acumular estas toxinas. Para ellos ha implementado programas de monitoreo e incrementado fondos destinados a la investigación y la capacitación.

Se pueden destacar tres programas de monitoreo: el Programa de Monitoreo de la Autoridad Sanitaria Regional (SEREMI), el Programa de Sanidad de Moluscos Bivalvos (PSMB) y el Programa de Control de Producto Final.

**Programa de monitoreo de la autoridad sanitaria regional (SEREMI):** este programa tiene por objetivo principal la disminución del riesgo de intoxicación por el consumo de moluscos bivalvos. Los programas de monitoreo de las regiones más australes se implementan en la década de los 90. Sin embargo el año 2006, se implementó un programa que abarca las tres regiones más australes del país (X, XI y XII Regiones) en su conjunto, el cual es coordinado por el Instituto de Fomento Pesquero. Se han establecido 152 estaciones de muestreo: 39 estaciones en la X región, 60 en la región de Aysén y 48 en la región de Magallanes. Los parámetros que analizan son fitoplancton (cualitativo y cuantitativo), toxinas en mariscos (VPM, VDM, VAM) y parámetros ambientales (clorofila a, nutrientes, temperatura y salinidad). Los análisis de toxinas son realizados en los laboratorios de la autoridad sanitaria regional ubicados en las principales ciudades del sur de Chile, tales como Puerto Montt, Castro, Quellón, Aysén y Punta Arenas. Estos resultados les permiten dictaminar las resoluciones sanitarias que determinan áreas autorizadas de extracción de mariscos, como las condiciones para su comercialización.

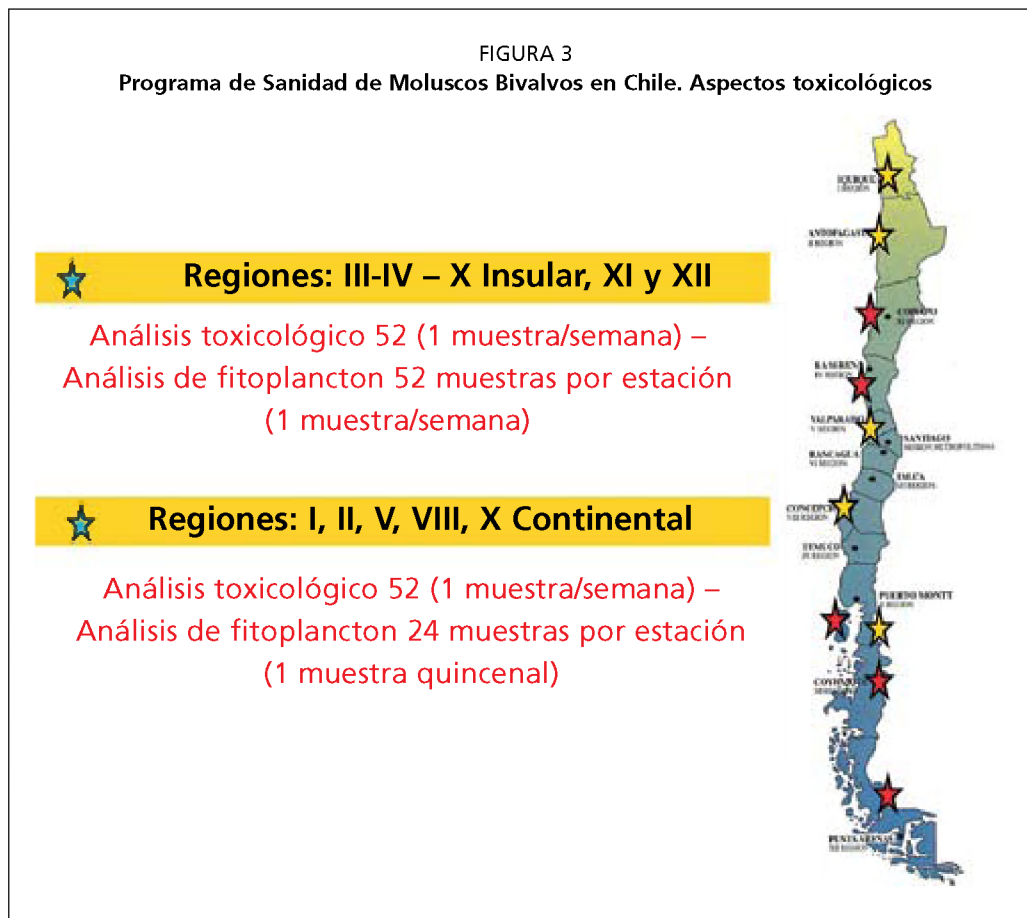
**Metodologías de detección de toxinas:** Las metodologías utilizadas para la detección de toxinas son bioensayo de ratón para el veneno paralizante (AOAC, 2005) y las

toxinas lipofílicas, y por Cromatografía de Alta Resolución (High Pressure Liquid Chromatography – HPLC) para el veneno amnésico de los mariscos (Quilliam *et al.*, 1995). Los límites permisibles para el consumo humano son: 80 µg STX eq. 100 g<sup>-1</sup> de carne para el veneno paralizante, no detectado (es decir si dos de tres ratones no mueren en un periodo de 24 hrs) para las toxinas lipofílicas y de 20 µg AD g<sup>-1</sup> de carne para el Veneno Amnésico de los Mariscos. Estos límites coinciden con los exigidos por la comunidad Económica Europea y por Estados Unidos de América.

Existe otra tecnología para la detección de toxinas paralizantes como la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con derivatización post-columna. Esta metodología se ha utilizado especialmente en investigación por su alta sensibilidad, precisión y reproducibilidad, que permite obtener información sobre los complejos tóxicos tanto en fitoplancton como en mariscos (Lagos, 2002). Es así, como se han descrito los perfiles toxicológicos de cepas de *Alexandrium catenella* de la X y XI Regiones (Sfeir *et al.*, 2005) y de la XII región y de los moluscos bivalvos (Lagos, 1998).

**Programa de Sanidad de Moluscos Bivalvos (PSMB):** Este programa establece las normas sanitarias aplicables a la producción y puesta en el mercado de moluscos bivalvos cuyo destino final sea la Unión Europea y/o Estados Unidos de América. Se divide en dos etapas, la primera es la clasificación de las áreas y la segunda es el monitoreo permanente de las áreas para vigilar su condición sanitaria. Este programa esta a cargo de SERNAPESCA y su costo es de responsabilidad de los productores. En el ámbito de las toxinas marinas, el monitoreo de las zonas de producción de los cultivos de bivalvos tienen diferentes requerimientos de análisis de toxinas dependiendo de la condición sanitaria de la región de extracción de los recursos. Los centros de cultivos ubicados en I, II, V, VIII, X región continental realizan un total de 52 análisis de toxinas (VPM, VDM, VAM), es decir una muestra por semana y 24 de análisis de fitoplancton por estación en el año (1 muestra cada 15 días). En las regiones III, IV, X Insular, XI y XII regiones se realizan 52 análisis de toxinas y de fitoplancton (1 muestra/semana) (Figura 3). Las muestras de fitoplancton cualitativas se toman con una red de fitoplancton de 23 µm de trama cubriendo los primeros 20 o 30 metros de la columna de agua y las muestras cuantitativas con una manguera integrando la columna de agua entre 0–15 metros de profundidad. En el laboratorio se identifican todas las microalgas con énfasis en la especies productoras de toxinas, es decir *Alexandrium catenella*, *Dinophysis acuta*, *Dinophysis acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Protoperdium crassipes* y *Pseudo-nitzschia australis*. Las entidades muestreadoras y los laboratorios que analizan estas muestras deben ser autorizadas por SERNAPESCA. Actualmente se encuentran dos laboratorios autorizados para el análisis de toxinas marinas: Centro Regional de Análisis de Recursos y Medio Ambiente, perteneciente a la Universidad Austral de Chile en Puerto Montt, y el Laboratorio de Toxinas Marinas, perteneciente a la Universidad de Chile, presente en Santiago y Castro (Chiloé).

**Programa de control de producto final:** Los productos que son exportados a la comunidad económica y/o Estados Unidos de América deben ser certificados de que los niveles de toxinas se encuentran bajo los límites permisibles para el consumo humano. El número de análisis de toxinas solicitados en el producto de exportación depende de diferentes factores tales como: volumen (toneladas) a exportar, área geográfica de origen del producto y si los moluscos bivalvos y/o gasterópodos son de alto o bajo riesgo de adquirir las toxinas. Por ejemplo, los gasterópodos y los ostiones (sólo se exporta el músculo) están incluidos en la categoría de bajo riesgo. Los abalones (*Haliotis rufescens*) y el loco (*Choncolepas choncholepas*) requieren análisis de VPM y VAM si provienen de la III, IV y X región, y sólo VPM si viene del resto del país. Los laboratorios que realizan estos análisis deben ser autorizados por SERNAPESCA para realizar los análisis.



**Investigación:** Desde la década de los noventa se comenzaron a financiar proyectos en el ámbito de las mareas rojas, estos fondos provinieron de diferentes fuentes tales como: Fondo de Investigación Pesquera (FIP), Fondo de Desarrollo e Innovación (FDI-CORFO), Comité Oceanográfico Nacional a través de su programa CIMAR-FIORDOS, Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDEF), Comisión Nacional de Investigación en Ciencia y Tecnología (CONICYT), Fondo Nacional de Desarrollo Regional (FNDR). Estos proyectos han financiado propuestas de monitoreo en las regiones más australes del país, producción de estándares para las toxinas del VPM y VDM, desarrollo de tecnologías rápidas para la detección de toxinas, identificación de y cuantificación de quistes de dinoflagelados tóxicos en los sedimentos del sur de Chile.

En el año 2002, como consecuencia del evento tóxico de *Alexandrium catenella* en el sector de Chiloé, se creó el Programa de Ciencia y Tecnología aplicada a Marea Roja, el cual tiene como objetivo contribuir a la prevención, mitigación y eventual problemas generados por las Floraciones Algales Nocivas. Las principales líneas de investigación financiadas son: estudios genómicos de *Alexandrium catenella*, monitoreo y educación, desarrollo de herramientas inmunológicas para la identificación de *A. catenella* y estudios de precursores bio-geoquímicos de las floraciones nocivas. Uno de los logros de este programa es la creación del primer cepario de microalgas productoras de toxinas en Chile, el cual esta a cargo del Centro I-mar perteneciente a la Universidad de Los Lagos en Puerto Montt (Stead *et al.*, 2005). Este programa tiene su segundo llamado a concurso en el año 2007.

### CONCLUSIONES

Se concluye con una serie de recomendaciones que deberían ser abordadas a través de proyectos de investigación y/o de acciones de mejoramiento de actividades que ya estén implementadas:

1. Desarrollar técnicas moleculares para la detección de microalgas tóxicas (*Pseudonitzschia*, *Alexandrium*) y de quistes de resistencias de *Alexandrium catenella*.
1. Implementar nuevas técnicas de detección de las toxinas lipofílicas.
2. Coordinar los programas de monitoreo existentes en las regiones para optimizar los recursos económicos y técnicos.
3. Desarrollar planes de manejo para explotación de bancos naturales de moluscos bivalvos afectados por biotoxinas marinas.
4. Estudiar la fisiología y toxicología de las microalgas que afectan a la salud pública y la salmonicultura.
5. Buscar los bancos de quistes de dinoflagelados tóxicos y estudiar su rol ecológico en la iniciación de los eventos tóxicos.
6. Mejorar las capacidades existentes en la taxonomía del fitoplancton.
7. Implementar laboratorios de análisis de toxinas en el norte de Chile, asociados al cultivo del ostión del norte (*Argopecten purpuratus*).
8. Desarrollar técnicas de detoxificación de moluscos bivalvos en planta de procesos.

## BIBLIOGRAFIA

- AOAC. 2005. Paralytic Shellfish Poison. Biological method. Final Action *Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist, dsec 959.08*. Capítulo 49: 79–81.
- Blanco, J., Álvarez, G. y Uribe, E. 2007. Identification of pectenotoxins in plankton, filter-feeders, and isolated cells of a *Dinophysis acuminata* with an atypical toxin profile, from Chile. *Toxicon.*, (49): 710–716.
- Benavides, H., Prado, L., Díaz, S.Y. y Carreto, J. 1995. An exceptional bloom of *Alexandrium catenella* in the Beagle Channel, Argentina. En P. Lassus, Arzul, G., Erard, E., Gentien. P. y Marcoillou, C. eds. *Harmful Marine Algal Blooms*, Págs. 113–119, Paris, Lavoisier Publishers.
- Fernández, M. L., Míguez, A., Cacho, E., Martínez, A., Diogéne, J. y Yasumoto, T. 2002. Bioensayos con mamíferos y ensayos bioquímicos y celulares para la detección de ficotoxinas, En E.A. Sar, Ferrario, M.E. y Reguera, B. eds. *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano*. págs 79–120. Instituto Español de Oceanografía. España.
- García, C., Mardones, P., Sfeir, A. y Lagos, N. 2004. Simultaneous presence of Paralytic and Diarrheic shellfish poisoning toxins in *Mytilus chilensis* samples collected in Chiloé Island, Austral Chilean Fjords. *Biol. Res.*, (37): 721–731.
- García, C., Truan D., Lagos, M., Santelices, J.P., Díaz, J.C. y Lagos, N. 2005. Metabolic transformation of dinophysistoxin-3 into dinophysistoxin-1 causes human intoxication by consumption of o-acyl-derivates dinophysistoxins contaminated shellfish. *Toxicol. Sci.*, (30): 287–205.
- Guzmán, L., H. Pacheco, H., Pizarro, G. y Alarcón, C. 2002. *Alexandrium catenella* y Veneno Paralizante de los Mariscos en Chile. En E.A. Sar, Ferrario, M.E. y Reguera, B. (eds). *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano*. Págs. 237–256. Instituto Español de Oceanografía. España.
- Lagos, N. 1998. Microalgal Blooms: a global issue with negative impact in Chile. *Biol. Res.*, (31): 375–1198.
- Lembeye, G. 1994. *Dinophysis acuta* y brotes de intoxicaciones diarreicas en Chile. *IOC Workshop Report*, 101: 30–33.
- Molinet, C., Lafon, A., Lembeye, G. y Moreno, C.A. 2003. Patrones de distribución espacial y temporal de floraciones de *Alexandrium catenella* (Whedon & Kofoid) Balech 1985 en aguas interiores de la patagonia noroccidental de Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, (76): 681–698.

- Murata, M., Kumagai, M., Lee, J.S. y Yasumoto, T.** 1987. Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron*, (28): 5869–5872.
- Oshima, Y.** 1995. Post-column derivatization liquid chromatographic methods for paralytic shellfish toxins. En G.M. Hallegraeff, Anderson, D.M. y Cembella, A.D. eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*, pág. 81. IOC Manuals and Guides, 33. IOC-UNESCO, Francia.
- Quilliam, M.A.** 2003. Chemical methods for lipophilic shellfish toxins. En G.M. Hallegraeff, Anderson, D.M. y Cembella, A.D. eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*, págs 211–245. Monographs on Oceanographic methodology 11. UNESCO Publishing, Francia.
- Quilliam, M., Xie, A. y Hardstaf, W.R.** 1995. Rapid extraction and clean up for liquid chromatographic determination of domoic acid in unsalted seafood. *J. AOAC. Int.*, (78): 543–554.
- Rivera, P.** 1985. Las especies del genero *Nitzschia* Hassall, sección *Pseudonitzschia* (Bacillariophyceae), en las aguas marinas chilenas. *Gayana Bot.*, (3-4): 9–38.
- Satake, M., MacKenzie, L. y Yasumoto, T.** 1997. Identification of *Protoceratium reticulatum* as the biogenetic origin of yessotoxin. *Nat. Toxins*, (5): 164–167.
- Seguel, M., Tocornal, M.A. y Sfeir, A.** 2005. Floraciones Algales Nocivas en los canales y fiordos del sur de Chile. *Cienc. Technol. Mar.*, (28): 5–13.
- Sfeir, A., Seguel, M. y Navarrete, F.** 2005. Composición toxicológica de distintas cepas chilenas de *Alexandrium catenella*. En *XXV Congreso de Ciencias del Mar- XI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar*. Pág 192. 16–20 de mayo de 2005. Viña del Mar. Chile.
- Stead, R. Varela, D., Seguel, M. y Navarrete, F.** 2005. Cepario Nacional de microalgas tóxicas: un apoyo para el avance en el conocimiento de los florecimientos de algas nocivas. En *XXV Congreso de Ciencias del Mar – XI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar*. Pág 371. 16–20 de mayo de 2005. Viña del Mar. Chile.
- Suárez-Isla, B., López, A., Hernández, C., Clément, A. y Guzmán, L.** 2002. Impacto económico de las Floraciones de Microalgas nocivas en Chile y datos recientes sobre la ocurrencia de veneno amnésico de los mariscos. En E.A. Sar, Ferrario, M.E. y Reguera, B. eds. *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano*. Págs. 259–268. Instituto Español de Oceanografía. España.
- Uribe, J.C., García, G., Rivas, M. y Lagos, N.** 2001. First report of diarrhetic shellfish toxins in Magellanic fjord, southern Chile. *Journal of Shellfish Research*, (20): 69–74.
- Yasumoto, T., Murata, M., Oshima Y., Matsumoto K. y Clardy, J.** 1984. Diarrhetic shellfish poisoning. En E.P. Ragelis, ed. *Seafood Toxins*, ACS Symposium Series. 262:207–214. American Chemical Society, Washington DC.
- Yasumoto, T., Murata, M., Oshima Y., Sano, M., Matsumoto, K. y Clardy, J.** 1985. Diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron*, (41): 1019–25.
- Zhao, J., Lembeye, G., Cenci, G., Wall, B. y Yasumoto T.** 1993. Determination of okadaic acid and dinophysistoxin -1 in mussels from Chile, Italy and Ireland. En T.J. Smayda y Shimizu, Y. eds. *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Págs. 587–592. Elsevier, Amsterdam.