



Ciencia y Tecnología del Mar

ISSN: 0716-2006

cona@shoa.cl

Comité Oceanográfico Nacional

Chile

Uribe, Paulina; Montecino, Vivian  
Estudios preliminares de la bioluminiscencia como herramienta para la detección temprana de  
dinoflagelados tóxicos en los canales y fiordos de la XI región.  
Ciencia y Tecnología del Mar, vol. 30, núm. 2, 2007, p. 0  
Comité Oceanográfico Nacional  
Valparaíso, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62430204>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

# ESTUDIOS PRELIMINARES DE LA BIOLUMINISCENCIA COMO HERRAMIENTA PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DE DINOFLAGELADOS TÓXICOS EN LOS CANALES Y FIORDOS DE LA XI REGIÓN.

URIBE, PAULINA<sup>1</sup>;  
MONTECINO VIVIAN<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA,  
Universidad de Chile.

[puribe@inta.cl](mailto:puribe@inta.cl)

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

[clorofil@chile.cl](mailto:clorofil@chile.cl)

## RESUMEN

En este estudio preliminar, se exploró la relación entre la emisión de luminiscencia en los canales y fiordos de la región de Aysén, y la presencia de dinoflagelados con particular interés en la presencia de dinoflagelados tóxicos del género *Alexandrium*. La luminiscencia fue registrada en muestras de fitoplancton vivo y se comparó la intensidad de la luz total emitida de muestras con presencia y ausencia de dinoflagelados. Las mediciones se realizaron con un luminómetro antes y después de aplicar estimulación química y mecánica. También se registró la luminiscencia directa en la columna de agua mediante lances verticales de un cuantómetro a medianoche y a mediodía. Nuestros resultados sugieren una correlación entre la luminiscencia emitida con estimulación química y mecánica, con la presencia de dinoflagelados en las muestras de fitoplancton. La luminiscencia en el fitoplancton de los fiordos de la XI región puede ser un indicador directo y en tiempo real de la presencia de dinoflagelados y de su localización en la columna de agua. Estos resultados también revelan la necesidad de posteriores estudios de esta característica particular de la luminiscencia de los dinoflagelados, en la búsqueda de herramientas tempranas y de alta sensibilidad para la detección de los dinoflagelados tóxicos.

**Palabras clave:** Luminiscencia, dinoflagelados, *Alexandrium*, detección, fitoplancton.

## ABSTRACT

In this preliminary study we have explored the possible relationship between the luminescence emission in channels and fjords of Aysén, and the presence of dinoflagellates in the water column with a particular interest on the presence of toxic dinoflagellates of the genus *Alexandrium*. The luminescence was registered in living phytoplankton samples and the total light emission in the absence and presence of dinoflagellates was compared. The measurements were obtained with a luminometer before and after chemical and mechanical stimulation. We have also registered the luminescence directly from the water column by vertical tows of a quantometer at midnight and at noon. Our results suggest a correlation between the emitted luminescence registered after stimulation and the presence of dinoflagellates on the water samples. These results also reveal the need of further studies on the particular characteristics of the luminescence of dinoflagellates in order to look for more sensitive and rapid tools for the detection of toxic dinoflagellates.

**Key words:** Luminescence, dinoflagellates, *Alexandrium*, detection, phytoplankton.

## INTRODUCCIÓN

Los fenómenos de Florecimientos Algales Nocivos (FAN) son cada vez más frecuentes y las áreas geográficas afectadas en el mundo se han extendido en los últimos años. De las especies nocivas causantes de FAN los dinoflagelados son los más abundantes (Sournia, 1995). Las toxinas producidas por los dinoflagelados, principalmente las paralizantes o VPM, son causantes de problemas graves para la salud pública y la economía en nuestro país, particularmente entre las Regiones de Los Lagos y Magallanes. Debido a esto, existe un creciente interés en el desarrollo de técnicas y sistemas de detección temprana de las especies causantes.

La bioluminiscencia es una propiedad única de los dinoflagelados que los distingue de los demás integrantes del fitoplancton y que puede reflejar su estado o actividad metabólica (Sweeney, 1987). Esta notable característica se ha observado en algunas especies, entre ellas las del género *Alexandrium*, conocidas por producir toxinas paralizantes o VPM.

La bioluminiscencia consiste en la emisión de destellos de luz azul-verdosa con una emisión máxima entre los 474- 476 nm, observables en los florecimientos en aguas costeras y en cultivos (Wilson & Hastings, 1998). La luminiscencia se desencadena por el estímulo mecánico, o movimiento del agua circundante, que es detectado en la membrana externa (Hamman & Seliger, 1972, 1982). Esta misma respuesta de emisión de destellos de luz se obtiene al bajar en forma rápida el pH del medio de cultivo, y puede ser detectada en luminómetros que

constan de fotomultiplicadores y que integran la cantidad total de fotones recibidos durante un intervalo de tiempo (Hamman & Seliger, 1972). La luminiscencia en los dinoflagelados sigue el ritmo circadiano, y su máximo ocurre en la mitad de la fase nocturna y el mínimo en la mitad de la fase diurna (Hastings, 1996).

En estudios anteriores (Uribe, 2002) que diferentes cepas de *Alexandrium catenella* aisladas en la zona de Aysén son luminiscentes. Esta emisión fue registrada en luminómetro y fue proporcional al número de células y mostró una variación de acuerdo a las condiciones fisiológicas.

El objetivo de este estudio preliminar es explorar la relación entre la detección de la emisión de luminiscencia del fitoplancton en los canales y fiordos de Aysén y la presencia de dinoflagelados en la columna de agua, en particular del género *Alexandrium*

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Muestras de Agua de Roseta*

Se utilizaron muestras de agua recogidas con roseta en profundidades de 5, 10, y 25 metros en las estaciones: 8, 9, 10 11 y 12 (Canal Moraleda); 16 y 17a, 21a (Fiordo Aysén), 22 (Canal Costa); 26 (Elefantes); y 28a (Cupquelán) en el crucero CIMAR 7 -II, a bordo del AGOR “Vidal Gormaz” (Tablas I -A y -B y Fig. 1).

Tabla I. Ubicación de las estaciones y las muestras obtenidas en los cruceros:

**A: CIMAR 7-II y B: CIMAR 8-II.**

### **A**

<b>Estación</b>	<b>Lugar</b>	<b>muestras</b>	<b>Longitud</b>	<b>Latitud</b>
8	Moraleda	RO	-73.4655	-44.4215
9	Moraleda	RO	-73.4963	-44.6883
10	Moraleda	RO	-73.5202	-44.8917
11	Moraleda	RO	-73.6425	-45.0940
12	Moraleda	RO	-73.6625	-45.2048
13	Meninea	F	-73.6620	-45.2700
14	Moraleda	F	-73.6480	-45.3517
16	Aysén	RO	-73.3797	-45.3633
17a	Aysén	RO	-73.1688	-45.2880
18	Aysén	F	-73.0992	-45.3500
21	Aysén	F	-72.8528	-45.4068
21a	Aysén	RO	-72.8143	-45.4732
22	Canal Costa	RO	-73.5172	-45.4927

23	Elefantes	F- NOC	-73.5683	-45.7242
26	Elefantes	RO- NOC	-73.8042	-46.4843
27	Elefantes	DÍA-NOC	-73.8042	-46.4843
28a	Cupquellán	RO- NOC	-73.5812	-46.2962
30a	Quitralco	NOC	-73.3898	-45.6810
32	Jacaf	F- NOC	-73.1863	-44.2938
34	Jacaf	F- DÍA- NOC	-72.8428	-44.4237
35	Ventisquero	DÍA	-72.5825	-44.3562
38	Puyuhuapi	F	-72.7608	-44.6698
B	I. Garrao	F	-73.7500	-44.3500
F	P. Tortuga	F	-73.1000	-45.3167
L	Quitralco	F	-73.5333	-45.7667
K	I. Nalcayec	F	-73.6667	-46.0833
I	B. Exploradores	F	-73.5333	-46.3000
Q	Seno Magdalena	F	-73.5667	-44.3333

## B

Estación	Lugar	muestras	Longitud	Latitud
4-B	Puerto Ballena	F- NOC	-73.8383	-43.6517
8	Moraleda	F	-73.4433	-44.4317
12	Moraleda	F- NOC	-73.6667	-45.2
45	Pérez Norte	F	-74.01	-43.9917
49	Tuamapu	F- NOC	-73.8617	-44.4717
52-B	Canal King	F	-74.3383	-44.6697
53	King	F	-74.4367	-44.6017
60a	Ninualac	F- NOC	-74.025	-45.01
62	Ninualac	F	-74.245	-45.0533
66	Darwin	F- NOC	-74.5367	-45.8217
76-B	Estero Goñi	F	-74.5383	-45.8393
1	Bahía Tictoc	F- NOC	-72.9	-43.6333

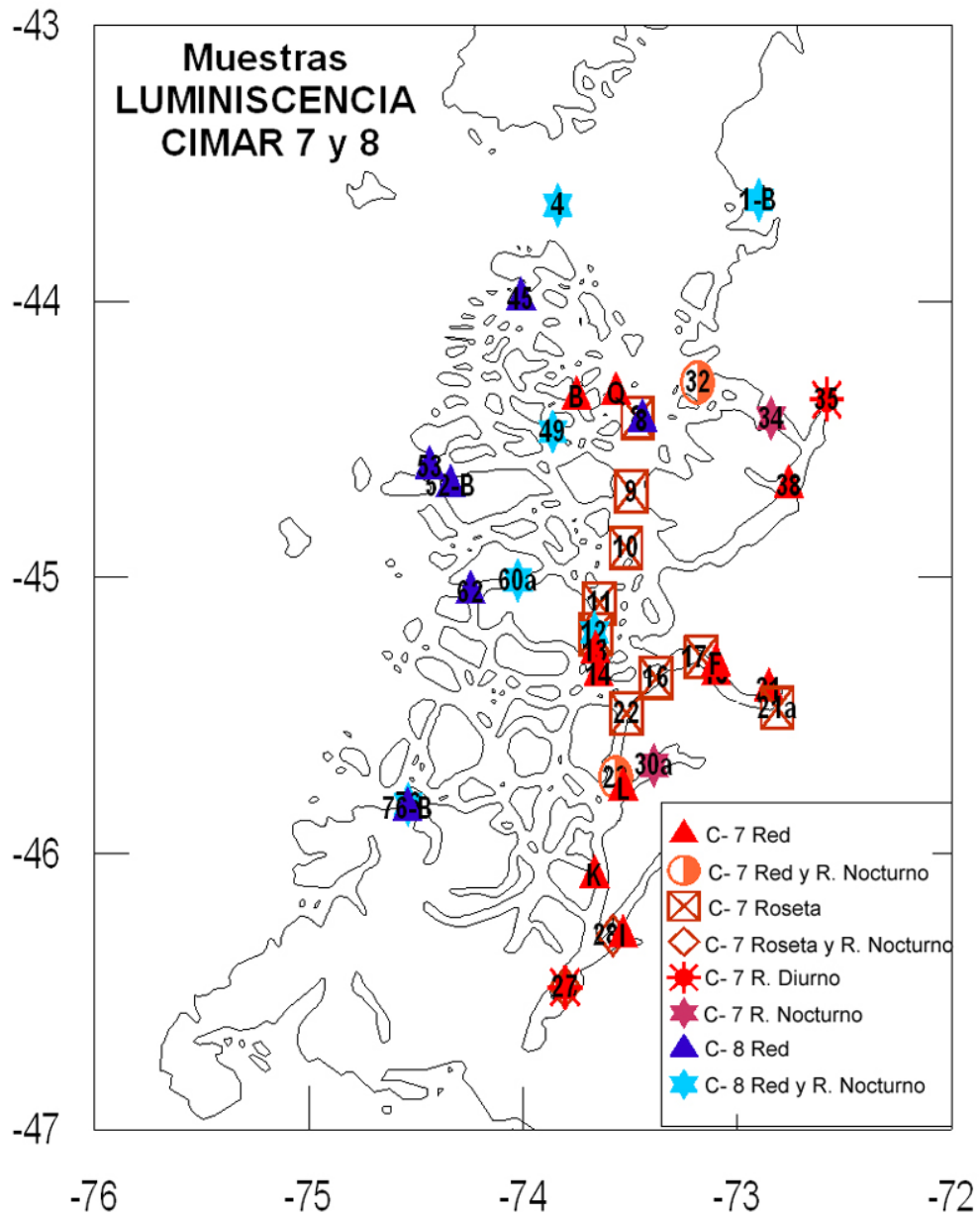


Fig. 1: Ubicación de las estaciones de recolección de muestras de fitoplancton y de registro diurno y nocturno de la luminiscencia en los cruceros CIMAR 7-II (C-7) y CIMAR 8-II (C-8).

### *Muestras de Fitoplancton*

Se tomaron muestras de fitoplancton con red de 23  $\mu\text{m}$ , mediante arrastres verticales desde 30 m. de profundidad hasta la superficie, en las estaciones B (I. Garrao); 13 y 14 (Moraleda); F (P. Tortuga); 18 y 21 (F. Aysén); 22 (Canal Costa); L (Quitralco); K (I. Nalcayec); I (B. Exploradores); 32 y 34 (Jacaf) del crucero CIMAR 7-II, y las estaciones: 4 (Boca del Guafo); 4-B (P. Ballena); 8, 12 (Canal Moraleda); 45 (Pérez Norte); 49 (Tuamapu); 52, 53 (Canal King); 60a, 62 (C. Ninualac); 76-B (E. Goñi) y 1-B (B. Tictoc) del crucero CIMAR 8-II. En todas las muestras, se eliminó el zooplancton con una malla de Nylon de 100  $\mu\text{m}$ . La concentración final se realizó con una malla de 11  $\mu\text{m}$ . las muestras se conservaron refrigeradas en oscuridad para el registro de la luminiscencia (Tablas I -A y -B y Fig. 1).

### *Registro de la luminiscencia*

La luminiscencia emitida en las muestras de agua de roseta y de muestras de fitoplancton de red se registró mediante un luminómetro portátil, o contador de fotones, en alícuotas de 1 ml, en un registro inicial, sin estímulo ( $L_i$ ) y el registro de la luminiscencia emitida total o  $L_T$  después del estímulo químico. La estimulación química se realizó agregando ácido acético suficiente para obtener un pH final de 4,0. La razón  $R_L$  entre la luminiscencia total con estimulación y la luminiscencia inicial corresponde a:

$$R_L = L_T / L_i$$

Se compararon los valores de  $R_L$  obtenidos de las diferentes muestras y se relacionó con la presencia de dinoflagelados, particularmente con respecto a la presencia de *Alexandrium catenella*.

Se optimizó el horario de registro según el ciclo circadiano, los registros en la media noche o mitad de la fase oscura y por lo tanto la etapa de mayor intensidad de la emisión de la luminiscencia (Hamman & Seliger, 1982). Para esto las muestras de fitoplancton se mantuvieron en la oscuridad a 4 °C.

### *Registro de luminiscencia in situ*

Determinación de la luminiscencia directa de la columna de agua se realizó mediante lances de 30 m, en las estaciones: 23 y 26 (Elefantes); 28a (Cupquelán); 30a (Quitralco); 32, 34 (Jacaf) para registros nocturnos y las estaciones 27 (Elefantes) y 35 (Ventisquero) en el crucero CIMAR 7-II, y las estaciones del crucero CIMAR

8-II, registrando la luz emitida cada 1 metro en un cuantómetro marca Li-cor, usando un sensor esférico, orientado hacia abajo (Tablas I -A y -B y Fig. 1).

#### *Observación y recuento*

50 ml de las muestras con registros de luminiscencia, se conservaron para la detección de la presencia de las especies de dinoflagelados mediante la observación de una alícuota (0,1 ml) en tres réplicas, bajo un cubreobjetos de 18 x 18 mm y mediante un microscopio óptico, usando un aumento de 10X.

#### *Aislamiento de dinoflagelados tóxicos*

Para la conservación, el análisis cualitativo de su contenido y el aislamiento de células vegetativas de *Alexandrium catenella*, las muestras positivas se guardaron refrigeradas y en oscuridad por un máximo de 8 horas, la mitad de cada una de estas muestras se mantuvo en refrigeración en oscuridad y se diluyeron 1:2 en medio de cultivo f/2 (Guillard, 1975). Posteriormente, en el laboratorio, el aislamiento de *A. catenella* se realizó mediante el método de “fishing” (Dr. Carlos Riquelme, comunicación personal), bajo un microscopio invertido (Leader, USA), que se realiza con pipeta y lavados sucesivos. Los cultivos obtenidos se mantuvieron en f/2, utilizando frascos estériles, a 16° C con un fotoperíodo de 10: 14 horas (luz: oscuridad) (Guillard, 1975).

## RESULTADOS

#### *Registro de luminiscencia*

Resultados preliminares, obtenidos durante el desarrollo del Crucero CIMAR 7 Fiordos -II (P. Uribe, datos no publicados) mostraron que, tanto en muestras de fitoplancton de red, como en muestras de agua de roseta, la condición fisiológica del fitoplancton era óptima después de mantenerlas en oscuridad y refrigeradas. Los valores obtenidos para la intensidad de la luminiscencia estuvieron en el rango de los registrados en otros estudios con cepas de dinoflagelados en cultivo (P. Uribe, 2002). Aunque la luminiscencia pudo ser detectada en muestras de agua de roseta, la intensidad de la emisión en estas muestras fue menor en 1 a 2 órdenes de magnitud que la registrada en muestras de red reflejando la mayor concentración de la muestra (Tabla II).

Tabla II. Valores promedio de la luminiscencia obtenida en muestras de fitoplancton, sometidas a estimulación química y mecánica, en unidades relativas de luz URL).

MUESTRAS DE FITOPLANCTON		
ESTACIÓN	RED	ROSETA
Jacaf	$8.37 \times 10^6$	$1.2 \times 10^4$
Moraleda	$7.19 \times 10^5$	$8.7 \times 10^4$

Los mayores valores de  $R_L$  se obtuvieron en aquellas muestras y/o alícuotas en las que se observó la presencia de dinoflagelados por microscopía, (Figs. 2-A y -B) y en particular en muestras con *A. catenella*. Estos datos permitieron seleccionar las muestras con valores de  $R_L$  más altos a partir de las que posteriormente se logró aislar células de *A. catenella* en el laboratorio, que se mantuvieron en cultivo.

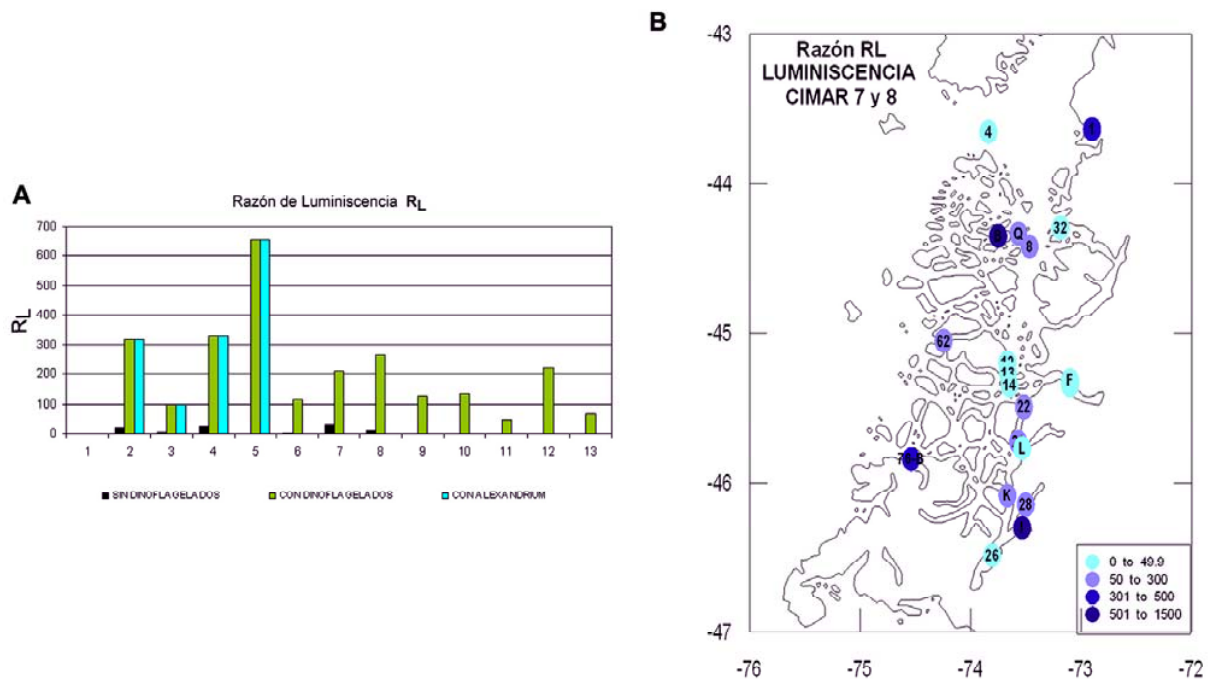


Fig. 2: A. Valores de la razón entre la luminiscencia con estimulación y la luminiscencia basal ( $R_L$ ), obtenidas en muestras de fitoplancton sin dinoflagelados, con dinoflagelados y con *A. catenella*. B: Ubicación de los valores de  $R_L$  en las diferentes estaciones en el área de estudio.

### *Registro de luminiscencia in situ*

Se obtuvieron perfiles de luminiscencia emitida en la columna de agua en lances verticales nocturnos y diurnos del cuantómetro Li-Cor. Como se observa en la figura 3-A, la medición de la luminiscencia diurna muestra una emisión de baja intensidad entre los 5-6 metros de profundidad en la estación del canal Jacaf y entre 3 y 4 m. en la estación de B. Elefantes. Por otra parte, como se observa en la figura 3-B que los valores nocturnos de luminiscencia son detectables en las profundidades de 0 a 10 metros en la estación en Jacaf, en tanto que en la estación B. Elefantes, la luminiscencia aumenta abruptamente a partir de 10 metros. Estos resultados muestran que el sensor esférico del cuantómetro Li-cor es suficientemente sensible para detectar la luminiscencia emitida directamente en la columna de agua, en lances verticales o *in situ*. Este instrumento se utiliza normalmente para determinar el coeficiente de radiación solar visible (400-700 m) en la columna de agua, porque es capaz de contar los fotones que llegan al sensor fotoeléctrico. Para las mediciones comparativas los registros se realizaron en total oscuridad desde la toldilla del AGOR “Vidal Gormaz”. Mediante este instrumento se logró establecer la profundidad en la que se localiza la mayor cantidad de emisión luminiscente. El instrumento es suficientemente sensible, incluso para detectar luminiscencia emitida durante el día, en las profundidades donde no hay interferencia de la luz solar. En esta etapa del ciclo circadiano la emisión de luminiscencia es más baja, como se determinó, por ejemplo, en E. Elefantes, durante el CIMAR Fiordos 7-II en profundidades bajas estos valores están sumadas a la radiación solar, por lo tanto no se puede determinar eficientemente la emisión de luminiscencia. (Fig. 3-B).

### Luminiscencia "in situ"

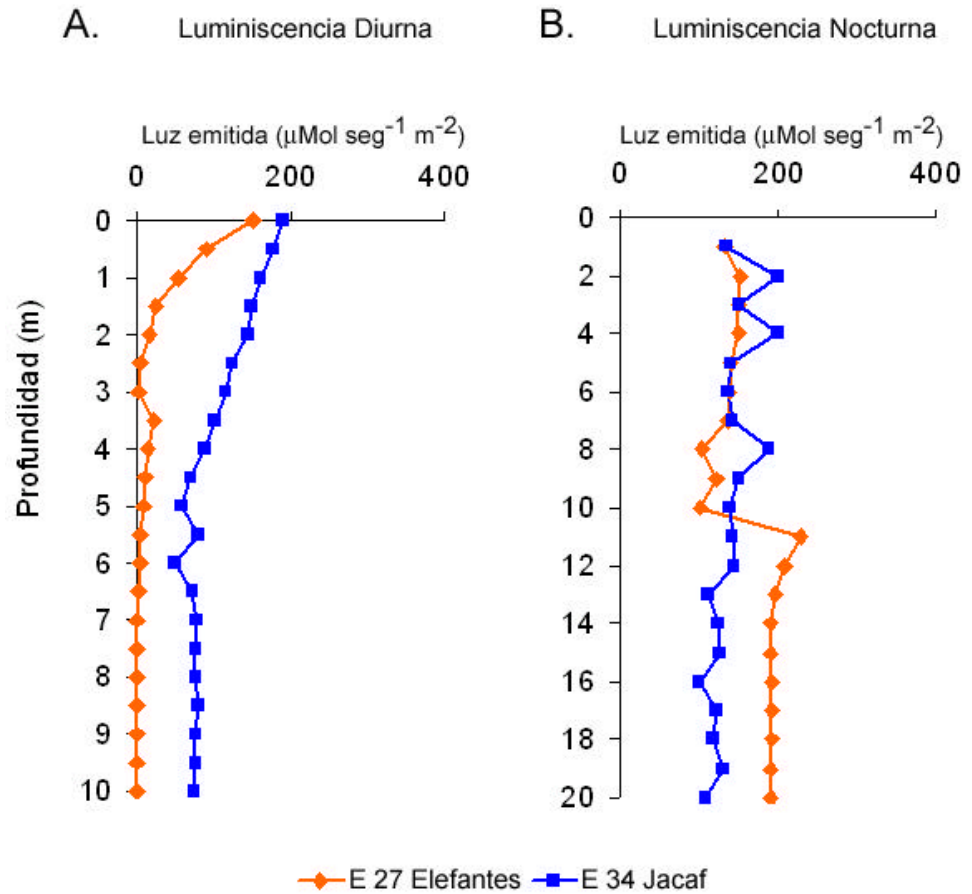
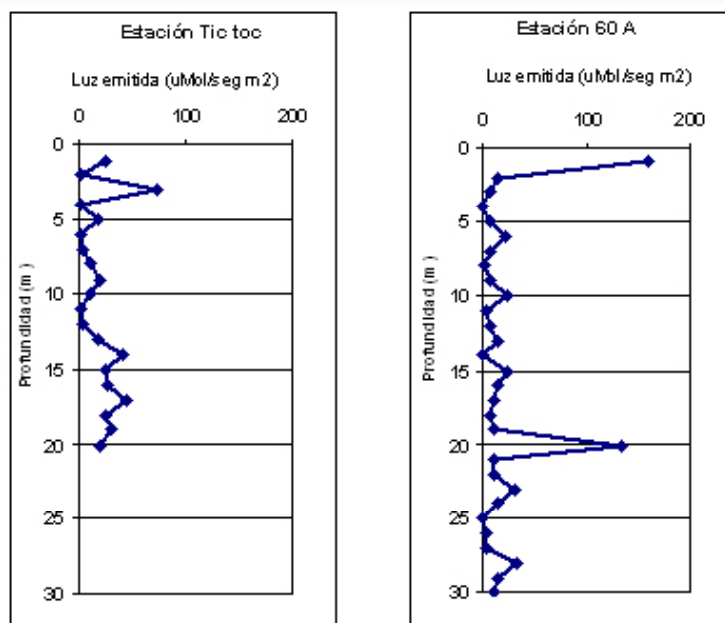


Fig. 3: Perfiles verticales de la emisión de luminiscencia *in situ* A: diurna y B: nocturna en las estaciones de Estero Elefantes (27) y Jacaf (34) en el crucero CIMAR 7 Fiordos -II.

En la figura 4- A y B se muestran ejemplos de los registros nocturnos obtenidos en el Crucero CIMAR 8-II, con diferencias en las emisiones máximas a profundidades bajas en aquellas estaciones en las que se detectó la presencia de *Alexandrium* y otros dinoflagelados luminiscentes (*Ceratiun spp.*, *Pyrocysts sp.* *Proto-peridinin sp.*) (Sweeney, 1963) en las muestras de fitoplancton mediante microscopía (Fig. 5-A), y en forma coincidente con lo observado en los registros de luminómetro. La emisión de luminiscencia detectada a profundidades mayores probablemente corresponde a la emitida por organismos del zooplancton, debido a que en las muestras de profundidades superiores a los 20 m. se encontraron variedades de copépodos y otros organismos luminiscentes mediante observaciones directas en el microscopio invertido.

## A Estaciones con *Alexandrium*



## B Estaciones sin *Alexandrium*

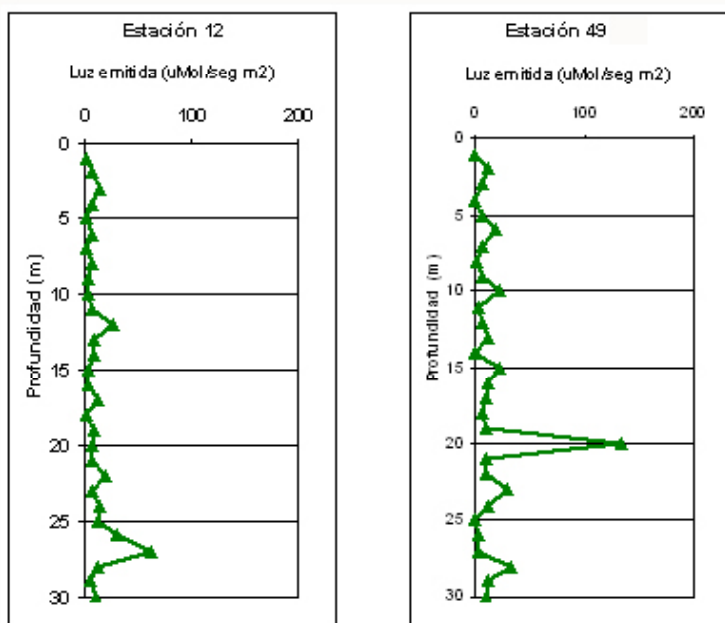


Fig. 4: Ejemplos de registros de la emisión de la luminiscencia en estaciones A: con presencia de *Alexandrium catenella*; y B: sin *Alexandrium catenella*.

## DISCUSIÓN

En estudios preliminares, (Uribe, 2002), se determinó y registró la bioluminiscencia de diferentes especies de dinoflagelados mediante uso de luminómetro en muestras de fitoplancton de red de la zona de Magallanes. Durante el crucero CIMAR 7 Fiordos, se registró por primera vez la luminiscencia *in situ* o directa mediante el uso de un cuantómetro Li-Cor (Uribe, 2002). Esta adaptación de un instrumento sencillo y de uso común en la bio-óptica como el cuantómetro, para hacer registros de áreas o cortes de la columna de agua para obtener una mejor localización de los dinoflagelados luminiscentes, demostró que este instrumento tiene la sensibilidad necesaria para detectar la luz emitida por los organismos luminiscentes y en diferentes etapas del ciclo circadiano. El cuantómetro permite también determinar la ubicación de estos organismos en la columna de agua mediante la realización de perfiles verticales de la luz emitida.

En las estaciones medidas, la bioluminiscencia registrada en los primeros metros de los perfiles estuvo correlacionada con la presencia de dinoflagelados en las muestras de fitoplancton de red. Aunque los dinoflagelados fotosintéticos se distribuyen en la capa fótica durante el día, y se desplazan en la columna de agua hacia diferentes profundidades en la noche, y por otra parte, los dinoflagelados no- fotosintéticos y mixotróficos presentan una distribución vertical aún mayor, variable durante el ciclo circadiano, la luminiscencia bajo 15 m puede atribuirse también a la presencia de zooplancton luminiscente.

Una forma descartar esta última posibilidad es a través de la medición de la luminiscencia en muestras discretas de fitoplancton tomadas con botella, a diferentes profundidades. Este registro, y el valor de la razón entre la luminiscencia emitida sin estímulo y con estímulo, llamado  $R_L$  en este estudio, permite discriminar la luminiscencia emitida por dinoflagelados de aquella emitida por otros organismos, pues sólo en los dinoflagelados la luminiscencia responde a estímulo mecánico y químico, a diferencia de lo que ocurre en los organismos del zooplancton.

Este parámetro, junto la observación al microscopio del contenido del fitoplancton vivo, pueden dar cuenta de los componentes más abundantes que están presentes y que son luminiscentes.

Por otra parte, se observaron diferencias en las intensidades de los registros directos en las estaciones con presencia de *Alexandrium* en comparación con aquellas estaciones en las que no se observó este dinoflagelado tóxico. Estos datos coincidieron con lo obtenido al comparar los valores de  $R_L$  de estaciones con dinoflagelados y sin dinoflagelados, y con *Alexandrium*. Estos registros permitieron seleccionar muestras de valores de  $R_L$  altos para la búsqueda de dinoflagelados y aislamiento posterior de células vegetativas de *Alexandrium catenella*. Este resultado se obtuvo en algunas estaciones y es muy importante porque permite contar con nuevos clones

para la continuación de estos estudios de luminiscencia en laboratorio y para determinar posteriormente las características fisiológicas de su emisión luminiscente en mayor detalle, en diferentes condiciones. Los registros obtenidos en algunas estaciones de los canales y fiordos de la Región de Aysén, han permitido establecer el rango de intensidad de la luminiscencia *in situ*, y sugieren que la razón entre la luminiscencia estimulada químicamente y la luminiscencia basal ( $R_L$ ) en las muestras de fitoplancton puede ser utilizada como un indicador de la presencia de dinoflagelados en una muestra de fitoplancton de red vivo.

Estos resultados pueden ser el punto de partida para desarrollar sistemas que permitan distinguir la luminiscencia emitida por dinoflagelados de aquella que proviene de organismos del zooplancton en los registros realizados directamente en la columna de agua, por ejemplo mediante la incorporación de instrumentos de mayor resolución para registrar la calidad de la luz y otras variables.

Recientemente, se ha determinado además que la integración entre las mediciones de bioluminiscencia y mediciones de contenido de clorofila en el fitoplancton es uno de los métodos bio-ópticos más exactos para la localización de la distribución de organismos primarios en el océano (Heine *et al.*, 2002).

Nuestros resultados preliminares en exploración de las características de la luminiscencia del fitoplancton en los canales y fiordos de la región de Aysén, muestran la importancia de desarrollar esta línea de investigación aplicada junto a investigaciones básicas de las características fisiológicas específicas de la emisión de luminiscencia de los dinoflagelados tóxicos como *Alexandrium catenella*, con el fin de diseñar técnicas específicas y complementarias a las existentes, para su detección temprana. Por ejemplo, es importante establecer las diferencias en frecuencia, ritmos, intensidades, tiempo de respuesta y pulsos de la luminiscencia de diferentes especies tóxicas y no tóxicas de dinoflagelados en diferentes condiciones y estímulos experimentales.

Es posible que las señales de luminiscencia tengan rasgos específicos que sean propios de grupos y especies de dinoflagelados, en forma análoga a lo que se observa en la comunicación coordinada mediante sonido en los vertebrados como aves y anfibios que, aunque son emitidos en rangos de longitud de onda similar, al hacer un análisis más detallado, con los instrumentos apropiados, se pueden distinguir patrones de frecuencias, ritmos, tonos, que los hace característicos para una especie o grupo. La luminiscencia de los insectos por ejemplo, es un mecanismo de comunicación entre individuos de un grupo o especie durante el cortejo y apareamiento (Knaust *et al.*, 1988; Lloyd, 1983; Levandowsky & Kaneta 1987). En estudios recientes se ha logrado identificar la emisión luminiscente de grupos de organismos diferentes como celenterados y dinoflagelados mediante un registros de la respuesta al estímulo de la agitación del agua simultáneo al registro de la emisión luminiscente en cortes y transectos de la columna de agua, con equipos especialmente diseñados para este propósito (Widder *et al.*, 2001; Widder, 1993).

Estos sistemas podrían llegar a ser un aporte y complemento a los programas de monitoreo de mareas rojas. La perspectiva de una aplicación o desarrollo de estas nuevas técnicas para la detección de dinoflagelados tóxicos nos parece de gran relevancia, dada la importancia e impacto económico y de salud pública de los florecimientos algales nocivos en la región de Aysén.

#### AGRADECIMIENTOS

Este estudio contó con la apreciable colaboración y apoyo de Rosa Astoreca, Gemita Pizarro, Claudio Vidal y de los oficiales y personal a bordo del AGOR “Vidal Gormaz” durante los cruceros CIMAR 7 Fiordos - II y 8-II.

#### REFERENCIAS

GUILLARD, R. R. L. 1975. Methods for Microflagellates and Nanoplankton. In J. R. Stein (ed.). Handbook of Phycological Methods: Culture methods and Growth Measurements. London, Cambridge University Press. Pp 69-85.

HAMMAN, J. P. & H. H. SELIGER. 1972. The Mechanical Triggering of Bioluminescence in Marine Dinoflagellates: Chemical Basis. *J. Cell. Physiol.* 80: 397-408.

HAMMAN J. P. & H. H. SELIGER. 1982. The Chemical Mimicking of the Mechanical Stimulation, Photoinhibition of Bioluminescence in the marine Dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*. *J. Cell. Physiol.* 111: 315-319.

HASTINGS, J. W. 1996. Chemistries and colors of Bioluminescent reactions: a review. *Gene* 173: 5-11.

HEINE, E. L., HERREN, C. M. & E. A. WIDDER. 2002. Distribution of Bioluminescence Across an Optical Front at LEO-15. Ocean Sciences Meeting ASLO. Hawaii, USA.

KNAUST, R., T. URBIG., L. LI, W. TAYLOR & J. W. HASTINGS. 1988. The circadian rhythm of bioluminescence in *Pyrocystis* is not due to differences in the amount of luciferase: a comparative study of the luminescent marine dinoflagellates. *J. of Phycol.* 34: 167- 172.

LEVANDOWSKY, M. & P. J. KANETA. 1987. Behaviour in dinoflagellates. In :The Biology of Dinoflagellates. Botanical Monographs Vol 21. Taylor FJR (ed). Blackwell Scientific Publications. Oxford London.pp. 360-397.

LLOYD , J. E. 1983. Bioluminescence and communication in insects. Annu. Rev. Entomol. 28: 131-160.

SOURNIA, A. 1995. Red tide and toxic marine phytoplankton of the world ocean: An inquiry into biodiversity. En: Lassus, P., Arzul, G., Evard, E., Gentien, P., Manailou, C. (eds.). Harmful marine Algal Bloom. Lavoisier Science, Paris. Pp 33-48.

SWEENEY, B. M. 1963. Bioluminescent Dinoflagellates. Biol. Bull 125: 177-181.

SWEENEY, B. M. 1987. In: The Biology of Dinoflagellates. Botanical Monographs Vol. 21. Taylor FJR (ed). Blackwell Scientific Publications. Oxford London. Pp. 269-281.

URIBE P. 2002. Efecto de las bacterias asociadas en la toxicidad del dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella*. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. 117 pp.

WIDDER, E. A., J. F. CASE, S. A. BERNSTEIN, S. MACINTYRE, M. R. LOWENSTINE, M. R. BOWLBY, & D. P. COOK. 1993. A new large volume bioluminescence bathyphotometer with defined turbulence excitation. Deep-Sea Res. 40: 607-627.

WIDDER, E. A. 2001. Bioluminescence and The Pelagic visual Environment. Mar. Fresh. Behav. Physiol.35: 1-26.

WILSON T. & J. W. HASTINGS. 1998. Bioluminiscence. Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 14: 197-230.