

NOTA CIENTÍFICA

Primer reporte del dinoflagelado potencialmente tóxico *Alexandrium minutum* Halim 1960 en el litoral peruano

First record of potentially toxic dinoflagellate, *Alexandrium minutum* Halim 1960, from Peruvian coastal

Maribel Baylón¹, Sonia Sánchez², Víctor Bárcena³, Juan López³ y Enrique Mamani⁴

1 Departamento de Hidrobiología y Pesquería, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Apartado postal 110058, Lima 11, Perú.

2 Laboratorio de Fitoplancton y Producción Primaria, Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Esquina Gamarra y General Valle S/N, Chucuito, Callao, Perú.

3 Laboratorio de Toxinas e Hidrobiología, Certificaciones del Perú S.A.

4 Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Email Maribel Baylón: mbaylonc@unmsm.edu.pe

Email Sonia Sánchez: soniasan@imarpe.gob.pe

Email Víctor Bárcena: fplancton@cerper.com

Email Juan López: fplancton@cerper.com

Email Enrique Mamani: e_mamani@hotmail.com

Resumen

En el presente trabajo se registra por primera vez al dinoflagelado potencialmente tóxico *Alexandrium minutum* Halim 1960 causante de las floraciones algales de marzo del 2006 y febrero del 2009, en el en el litoral del Callao, Perú. La identificación de *A. minutum* se realizó mediante un examen morfo-taxonómico detallando sus placas con microscopía de luz y epifluorescencia. Para su cuantificación se utilizaron cámaras de sedimentación. Nuestros resultados reportan por primera vez la presencia de *A. minutum* en el lado sudamericano del Pacífico, frente al Callao. Las características en tamaño, forma y morfología tecal que exhibieron los especímenes fueron muy similares a las descripciones clásicas de esta especie.

Palabras clave: dinoflagelado; morfología; *Alexandrium*; floraciones algales; Perú.

Abstract

Herein, we report the first record of the potentially toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* Halim 1960 from the Peruvian littoral. *Alexandrium minutum* produced the algae bloom in March 2006 and February 2009, in the Callao bay. Its identification was carried out by a morpho-taxonomic examination, detailing their plates with light and epifluorescence microscopy, moreover its quantification was realized in sedimentation chambers. This is the first report of *A. minutum* for Southeast Pacific. The characteristics in size, shape and thecal morphology were similarly to original descriptions of this species.

Keywords: dinoflagellate; morphology; *Alexandrium*; algal blooms; Peru.

Citación:

Baylón M., S. Sánchez, V. Bárcena, J. López y E. Mamani. 2015. LPrimer reporte del dinoflagelado potencialmente tóxico *Alexandrium minutum* Halim 1960 en el litoral peruano. Revista peruana de biología 22(1): 113 - 118 (Abril 2015). doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v22i1.11129>

Información sobre los autores:

MB, SS, VB, JL Y EM: realizaron la colecta de muestras; MB, SS: realizaron las identificaciones y taxonomía; SS, VB: fotografía; MB, SS, VB, JL Y EM: revisaron y aprobaron el manuscrito.

Los autores no incurrir en conflictos de intereses.

Presentado: 07/09/2014
Aceptado: 29/11/2014
Publicado online: 24/04/2015

Journal home page: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/index>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Peruana de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citadas. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con editor.revperubiol@gmail.com.

Introducción

De las 5000 especies de microalgas marinas descritas, aproximadamente 300 pueden producir floraciones algales y 75 han sido registradas como tóxicas (Andersen 1996); la mayoría de éstas son dinoflagelados. El género *Alexandrium* es ampliamente conocido por que incluye especies que producen potentes toxinas y que producen severos síndromes tóxicos como la Intoxicación Paralizante por Marisco [PSP en inglés] (Anderson et al. 1994, Halegraeff et al. 1995). En los últimos años, el incremento en intensidad, duración y distribución geográfica de las ocurrencias de floraciones algales ocasionada por este grupo de dinoflagelados, sumados a los reportes de casos de intoxicación humana, han causado severas pérdidas económicas en la industria pesquera y originado una mayor preocupación en temas de salud pública (Anderson et al. 2012).

Los dinoflagelados tecados del género *Alexandrium* han sido poco estudiados en las costas peruanas, debido principalmente a que la identificación de las especies requiere de minuciosos estudios morfológicos de la tabulación tecal. Hasta el momento, en la costa peruana se han reportado cuatro especies del género *Alexandrium*: *A. peruvianum* (identificado originalmente como *Gonyaulax peruviana* por Balech y Rojas de Mendiola, 1977), *A. monilatum* (Ochoa et al. 1999), *A. affine* (Vera et al. 1999) y recientemente *Alexandrium tamiyavanichi* (Bárceña et al. 2012). Al presente, solamente *A. peruvianum* ha sido asociado a la ocurrencia esporádica de toxinas PSP principalmente en la costa central de Perú, pero su naturaleza tóxica aún no ha sido clarificada en Perú (Antinori et al. 2002).

Alexandrium minutum, es un dinoflagelado de pequeñas dimensiones. Balech (1989) realizó una redescrición de la especie incluyendo un análisis minucioso de la relación entre Po y l', forma de la l', la presencia o ausencia del poro ventral y los componentes sulcales, incluyendo sus variaciones. Desde que se describió por primera vez *A. minutum* en el Puerto de Alejandría, Egipto (Halim 1960), ha sido registrado globalmente tanto en países del hemisferio norte (Montresor et al. 1988, Honsell 1993, Balech 1995, Franco et al. 1995, Hansen et al. 2003, Nascimento et al. 2005, Ranston et al. 2007, Penna et al. 2008, Brown et al. 2010) como del hemisferio sur (Bolch 1991, Hallegraef et al. 1988, 1991, Leaw et al. 2005, Lim et al. 2006, McCauley et al. 2009, Odebrecht 2010). Su naturaleza tóxica es ampliamente conocida, determinada en especímenes de Australia (Hallegraef et al. 1988), Nueva Zelanda (Mackenzie & Berkett 1997), Europa (Leudox et al. 1991) y Asia (Lim et al. 2007) (Fig. 1).

El presente trabajo da a conocer el primer registro del dinoflagelado potencialmente tóxico *Alexandrium minutum* Halim 1960 en el Perú y que ocasionó una floración frente al Callao, en el Muelle Dársena en marzo 2006 y en las inmediaciones del muelle de IMARPE en febrero del 2009. Así mismo se da a conocer algunas características ambientales asociadas a su presencia.

Material y métodos

La primera muestra fue recolectada como parte de un monitoreo de rutina de Environmental Resources Management (ERM) en mayo del 2006 se colectaron muestras de fitoplancton de la estación fija, denominada E-5 del Muelle Dársena, ubicada en los 12°02'58.5"S; 77°08'41.7"W. Otras muestras fueron recolectadas como parte de un monitoreo del Instituto

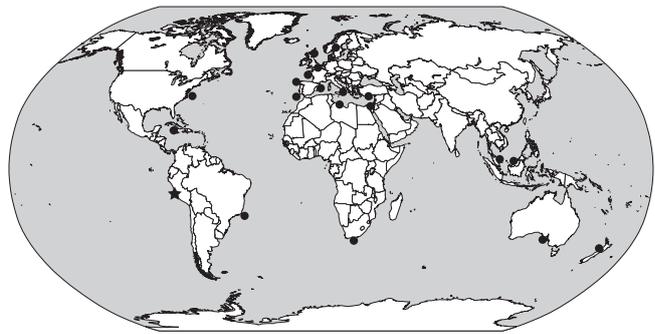


Figura 1. Distribución de *Alexandrium minutum*, localidades donde ha sido reportada. Estrella: este trabajo.

del Mar del Perú para el estudio de Floraciones Algales, en la estación fija denominada EFC, del Muelle de IMARPE, ubicada en 12°03'46"S; 77°04' 25"W en diciembre del 2008 y febrero del 2009 (Fig. 2).

En todos los casos, las colectas para los análisis cualitativos se realizaron con arrastres horizontales de una red de plancton de 10 µm de abertura de malla. Adicionalmente, para los análisis cuantitativos se colectaron muestras de agua de superficie, utilizando un balde de 5 L. Las muestras fueron preservadas con formalina neutralizada al 2% para las muestras cualitativas y

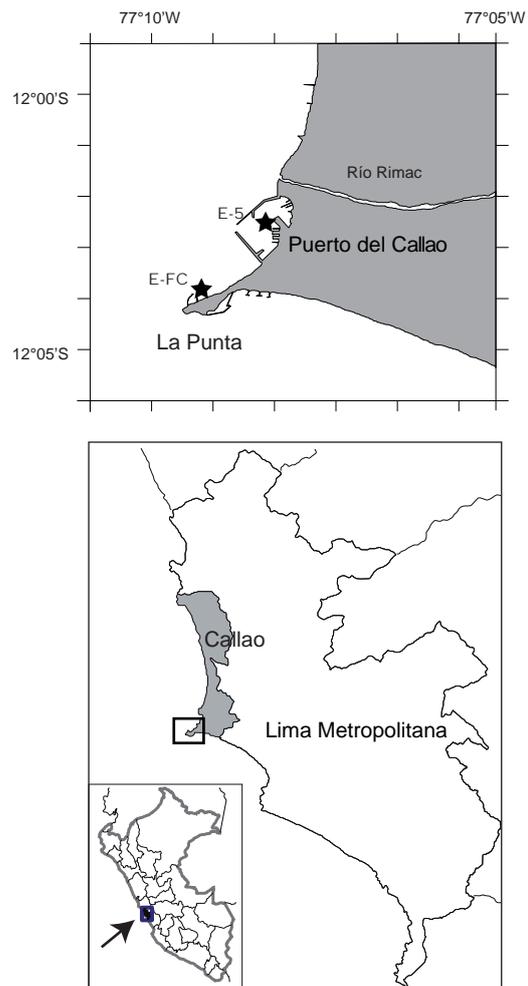


Figura 2. Mapa señalando la estación el E-5 del Muelle Dársena, en el Puerto del Callao y la estación EFC del Muelle de IMARPE de la Bahía del Callao.

0.4% para las muestras cuantitativas. Los recuentos celulares se efectuaron por el método de Utermöhl (1958) usando cámaras de sedimentación de 50 cc, y empleando un microscopio invertido Nikon Eclipse TS100.

Una submuestra fue analizada para la identificación y la descripción morfológica de la especie de *Alexandrium*. Para la identificación se consideró la forma y tamaño celular, tabulación tecal y la forma detallada de placas individuales de acuerdo a Balech (1989, 1995). La morfología celular y el patrón de placas se observaron en microscopía de luz siguiendo a Steidinger (1979) con el fin de obtener tecas vacías y ver al detalle las características de las placas con valor taxonómico para este grupo. Las células de *Alexandrium* fueron previamente tratadas con hipoclorito de sodio al 5% y examinadas en un microscopio compuesto Nikon Eclipse E200 a 400x y 1000x aumentos. Para un estudio más exhaustivo de la morfología de las placas se examinaron las células en un microscopio compuesto de epifluorescencia Nikon 50I tratadas con calcofluor (Fritz & Triemer 1985) al 0.1 % en el Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Científica del Sur.

Resultados

Condiciones ambientales y análisis cuantitativo.- Las floraciones algales tuvieron una amplitud aproximada de 1 km² y una fuerte coloración pardo rojiza en las cercanías del Muelle Dársena y Muelle del IMARPE en la Bahía del Callao y fueron observadas solamente durante un día. La Bahía del Callao se caracteriza por presentar focos de contaminación, vinculados a: aguas provenientes del río Rímac; aguas de la rada interior del Puerto, donde la contaminación es intensificada debido a su lenta recirculación, y por actividades antropogénicas del Puerto, derrames ocasionales de petróleo, desechos orgánicos y de los buques, etc. (Guillén et al. 1978).

El análisis cuantitativo de *Alexandrium* arrojó una concentración de entre 2×10^6 y 16×10^6 cel.L⁻¹. La flora acompañante estuvo conformada por *Skeletonema costatum*, *Leptocylindrus danicus*, *Pseudo-nitzschia pungens*, *Gymnodinium* sp. y *Thalassionema nitzschioides*, con concentraciones celulares promedio de 10² cel.L⁻¹. Además se observaron, *Eutreptiella gymnastica*, microflagelados no identificados y otras diatomeas y otros dinoflagelados en concentraciones menores (<100 cel.L⁻¹). La temperatura superficial del mar (TSM) fue de 21.2 °C, salinidades de 34.63 psu y pH 8.07.

Taxonomía

CLASE DINOPHYCEAE FRITSCH
 ORDEN GONYAULACALES TAYLOR
 FAMILIA GONIODOMATACEAE LINDEMANN
 GENERO *ALEXANDRIUM* HALIM

Alexandrium minutum Halim 1960

Morfología celular.-Se identificaron células solitarias, de forma oval y de tamaño pequeño, con un ancho de 19.3 – 22.5 µm (promedio:20.4 µm) y largo de 25.6 – 29.4 µm (promedio: 28.3 µm) respectivamente, mostrando tecas ligeramente más largas que anchas. La epiteca cónica a semiesférica; en tanto la hipoteca semielíptica y en algunos casos con un aplanamiento algo oblicuo del borde antapical en vista ventral. Cingulum mediano, descendente y fuertemente excavado conectado a un sulcus amplio (Figs 3 y 5).

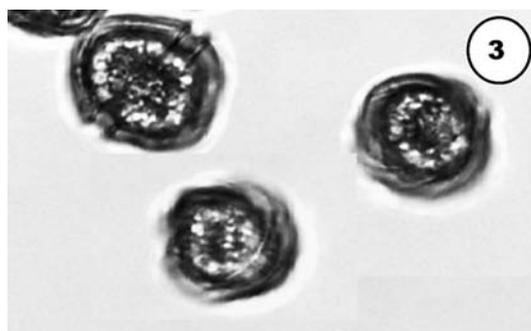


Figura 3. Microfotografías al microscopio compuesto de *A. minutum* en una floración algal.

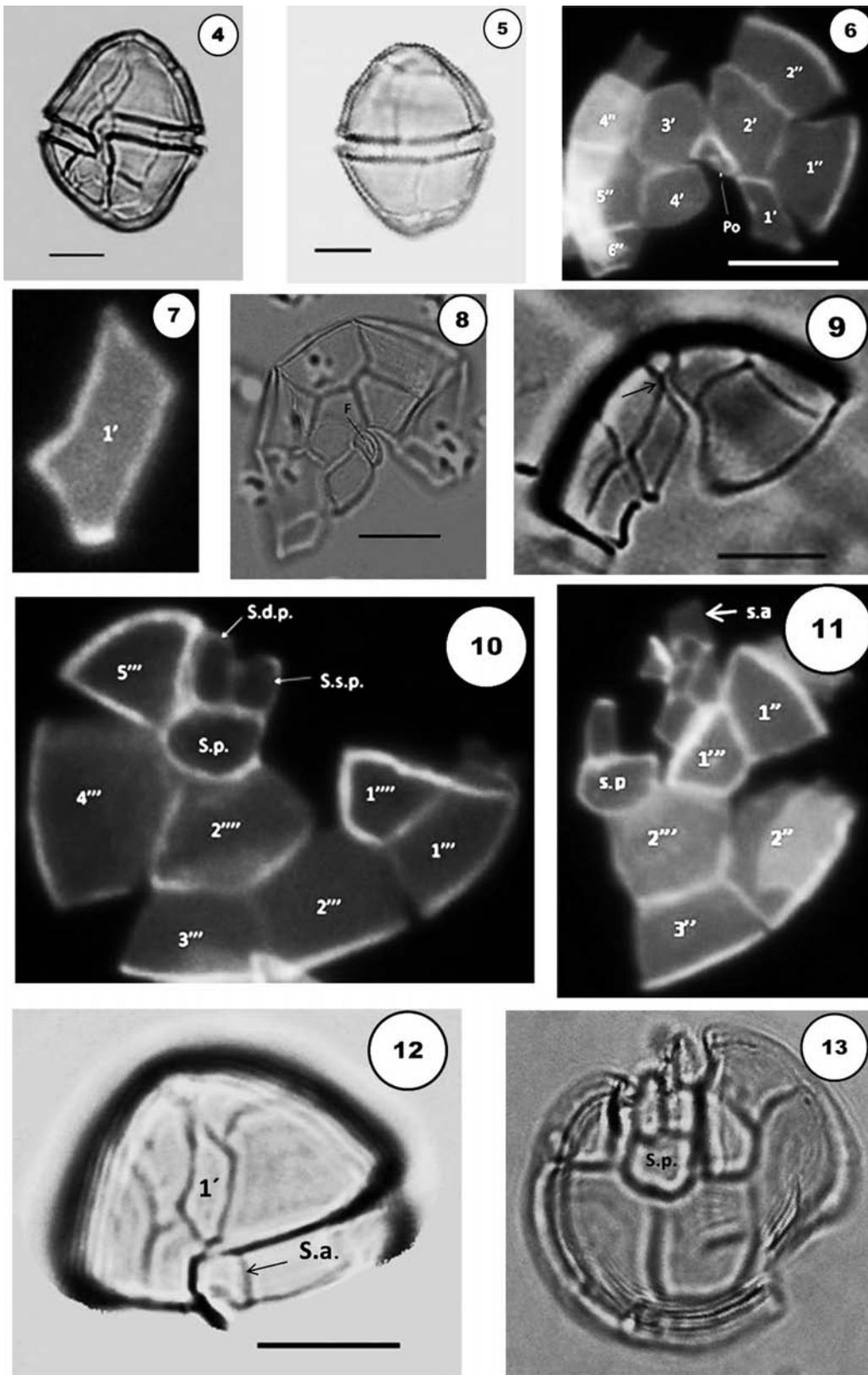
Una de las principales placas con valor taxonómico para este grupo de dinoflagelados, el complejo del poro apical (APC) o Poro Apical (Po) fue de aspecto triangular, con el lado dorsal aplanado y el lado ventral aguzado que se conectó directamente a la primera placa apical (1'). Mostró un gran foramen en forma de "coma", callus indistinto (Figs 6 y 8).

La primera placa apical (1') de forma romboidal, angosta, con el lado anterior derecho y el posterior izquierdo más largos que los otros dos lados. En el lado izquierdo de esta placa, tanto el borde anterior como el posterior, fueron rectos; en cambio, los márgenes anteriores y posterior derecho mostraron una ligera concavidad en la que no se observó un poro ventral. El margen posterior fue algo truncado y se asentó a lo largo del margen anterior de la sulcal anterior (Figs 6, 7, 9 y 12). El extremo anterior se conectó directamente al APC por medio de un borde muy corto (Fig. 6). No se observó la presencia de poro ventral en la placa 1'.

Algunos especímenes peruanos mostraron cierta discontinuidad entre la 1' y el Po al observarse una prolongación del borde anterior de la 1' en forma de hilo que conecta indirectamente estas dos placas (Fig. 9) Otra placa de la epiteca de importancia taxonómica es la sexta precingular 6". Ésta fue pequeña y angosta, más larga que ancha en comparación a otras placas precingulares (Fig. 6)

Entre las placas sulcales, son dos las placas con valor taxonómico para diferenciar especies de *Alexandrium*; la sulcal anterior (S.a) y la sulcal posterior (S.p). La primera de forma trapezoidal, tan ancha como larga. El margen anterior recto sobre el que se asienta la 1'. El margen posterior presentó una moderada concavidad originando dos brazos. El de la derecha, denominado apófisis unciforme, fue más angosto que el brazo izquierdo (Figs 10 y 12). La sulcal posterior de aspecto irregular fue más ancha que larga. Su lado posterior fue convexo y el anterior irregular mostrando dos concavidades que reflejaron la posición de inserción tanto de la sulcal posterior izquierda (S.s.p) como de la sulcal posterior derecha (S.d.p). Los bordes laterales fueron convexos (Figs 10, 11 y 13).

Dentro de las placas postcingulares que ayudaron en la identificación de esta especie se encuentran la primera postcingular (1''') ancha, de forma trapezoidal, con el margen anterior recto y el posterior con el borde inclinado hacia la izquierda. La quinta postcingular (5'''), fue más grande que la 1''', de aspecto trapezoidal también pero con el margen anterior algo convexo (Fig. 11). Las dos antapicales (1'''' y 2''') también proporcionaron valor taxonómico en la confirmación de la identidad de esta



Figuras. 4 – 13. Microfotografías al microscopio compuesto de *A. minutum*. **(4 y 5)** Morfología general de la célula. **(4)** Vista ventral. **(5)** Vista dorsal. **(6)** Po conectado directamente a la primera placa apical (1'). **(8)** Po mostrando un gran foramen en forma de “coma” (flecha). **(7, 9 y 12)** La primera placa apical (1') de forma romboidal, angosta, con el lado anterior derecho y el posterior izquierdo más largos que los otros dos lados. **(6, 7, 10 y 11)** Microfotografías de *A. minutum* bajo Epifluorescencia. **(6)** Patrón epitecal mostrando la forma triangular del Po, la sexta precingular 6'' más larga que ancha y la conexión directa entre el Po y la 1'. **(7)** Primera placa apical 1' en la que se observa la ausencia del poro ventral. **(10)** Patrón hipotecal de *A. minutum* mostrando las placas poscingulares 1''' a 5''', y las dos antapicales 1'''' y 2'''. **(10, 11 y 13)** Detalle de la S.a. de forma trapezoidal **(11 y 13)** Detalles de la S.p más ancha que larga, con el lado posterior convexo y el anterior mostrando dos concavidades que reflejaron la posición de inserción S.s.p y la S.d.p. Barra de escala: 10 µm.

especie al ser similares en forma a las descripciones de Balech (1989) y Ranston et al (2007) (Fig. 11).

Discusión

Nuestros resultados confirman por primera vez la presencia de *Alexandrium minutum* Halim 1960 en el litoral Sudamericano del Pacífico sudoriental. Las características en tamaño, forma y morfología tecal que exhibieron los especímenes hallados en el Puerto del Callao fueron muy similares a las descripciones clásicas de esta especie hechas por Balech en 1989 y 1995, salvo una excepción que se explicará más adelante.

Una propiedad importante en la morfología de las especies es su tamaño, pero debido a la gran variabilidad intraespecífica que se ha encontrado en algunas de ellas, este carácter ha perdido algo de valor taxonómico en el género *Alexandrium* (Ranston et al. 2007). Sin embargo en *A. minutum* sí es una cualidad importante ya que desde su descripción original (Halim, 1960) y luego la redescritión hecha por Balech (1989), el tamaño pequeño de este dinoflagelado ha sido un rasgo distintivo en relación a otras especies. Especímenes colectados en Nueva Zelanda (Mackenzie y Berkett 1997), el Mar Mediterráneo (Vila et al. 2005) y en la bahía de Hunts en Jamaica (Ranston et al. 2007) mostraron rangos de tamaños muy similares a los especímenes de la localidad tipo, Puerto de Alejandría (Halim 1960, Balech 1989) y a los reportados en este trabajo.

La confirmación de la identidad de especies de *Alexandrium* se ha basado principalmente en el examen morfológico detallado de las placas de la teca (Balech 1995). Dicho esto, la primera placa apical (1') ofrece un criterio taxonómico de gran valor en la separación de especies de este grupo. En *A. minutum* las características más resaltantes de esta placa es su relación directa e indirecta con el poro apical y la presencia siempre de un poro ventral (Balech, 1989, 1995). Los especímenes peruanos exhibieron una conexión directa e indirecta con la placa del poro apical corroborando la descripción original; no obstante, se sabe que esta característica mantiene fuertes variaciones intraespecíficas e incluso intraclonales debido a una prolongación aguzada del borde anterior de la 1' y que asemeja una discontinuidad o conexión indirecta entre estas dos placas, señalado en Balech (1989, 1995), Vila et al. (2005) y Ranston et al. (2007).

Anteriormente mencionado, otro atributo importante de la 1' es la existencia del poro ventral. En los individuos de *A. minutum* hallados en el Muelle Dársena-Puerto de Callao no se evidenció la presencia de esta estructura, siendo un hallazgo de considerable notoriedad que las diferencia de otras poblaciones estudiadas en diferentes partes del mundo. Sin embargo, hace algunos años, un morfotipo de esta especie fue observado sin poro ventral en Dinamarca y otras localidades europeas (Hansen et al. 2003). Asimismo, en dos cepas de Malasia el 10% y 5% del total de ejemplares analizados no presento el poro ventral (Lim et al. 2007). Con estas evidencias, se le resta valor taxonómico a esta estructura en el diagnóstico de especies de *Alexandrium* siendo su utilidad cuestionada (Hansen et al. 2003). Por último, esto sustentaría también que *A. angustitabulatum*, que en un principio se describió como una especie cercanamente relacionada a *A. minutum* y diferenciada de éste por la forma de la 1' (dos márgenes más largos paralelos), una corta sutura con la sexta placa precingular (6'') y la ausencia del poro ventral, no fuera considerada como una especie válida (Lilly et al. 2005).

Otros caracteres distintivos en la descripción de *A. minutum* es la morfología de la sexta placa precingular (6'') y de la sulcal anterior (S.a.), destacando la relación ancho: longitud. Si bien, la morfología de estas placas en los ejemplares peruanos concuerdan con la descripción de Balech (1989, 1995), Lim et al. (2007) han observado variaciones significativas en el ancho de estas placas dentro de una misma cepa. Casi la tercera parte de individuos analizados mostraron placas 6'' y sulcales anteriores más anchas. Importante detalle ya que *A. lusitanicum* se diferencia de *A. minutum* por poseer una placa sulcal anterior más ancha que larga (Balech 1995). Con estas observaciones y estudios moleculares (Zardoya et al. 1995, Lilly et al. 2005), se ha podido determinar que *A. lusitanicum* es un sinónimo de *A. minutum*.

La presencia de *A. minutum* en el litoral Peruano, podría estar asociada a la introducción del agua de lastre como resultado de las actividades de transporte marítimo lo cual sería una hipótesis muy razonable porque la zona de donde proceden las muestras es una zona portuaria y de alto tránsito marítimo. Sin embargo, no se descarta que la presencia de *A. minutum*, se trate de una población que haya pasado inadvertida debido a la falta de un monitoreo frecuente en la zona y que condiciones como la contaminación orgánica y eutrofización costera hallan favorecido a su floración. Investigadores como Balech (1995) y Bechemin et al. (1999), habían considerado a estas condiciones ambientales como las principales causas en la expansión e incremento de las floraciones algales nocivas en muchas latitudes.

La presencia de *A. minutum* en nuestro litoral representaría un riesgo significativo para la salud humana, el sector pesquero y la economía. La concentración registrada en el presente estudio (2006 y 2009), excede ampliamente los límites aceptables en otros países. En Islas Baleares (España), a valores de 10^3 Cél.L⁻¹ de *A. minutum* se aplican programas de contingencia con intensificación de monitoreos y cierres preventivos de las áreas afectadas. Lo mismo sucede en Dinamarca, a concentraciones tan bajas como 500 cél.L⁻¹ se ordena el cierre o restricciones en áreas de extracción de mariscos (Anderson 1996). En los casos estudiados, las floraciones de *Alexandrium minutum* frente al Callao y en el Muelle Dársena, Perú, no reportaron la muerte de peces ni casos de intoxicación en humanos, posiblemente debido a que su duración fue muy corta. Casos similar se reportó en Bahía Hunts, Jamaica, donde de la presencia de *A. minutum* tampoco se registró efectos tóxicos (Ranston et al. 2007).

Agradecimientos

Agradecemos a Christian Terry (ERM Perú S.A) por proporcionarnos el material; al Dr. Santiago Fraga (Centro Oceanográfico de Vigo, IEO, España) por su ayuda en la confirmación de la especie y a Ericka Espinoza por la elaboración del mapa de ubicación de las coordenadas.

Literatura citada

- Andersen P. 1996. Design and Implementation of some Harmful Algal Monitoring Systems. IOC Technical Series No. 44: UNESCO.
- Anderson D. 1994. Red Tides. Scientific American August 1994: 62 – 68.
- Antinori J., L.M. Sánchez, J.A. Mendoza, O. Flores, D. Ascón. 2002. Monitoring of marine biotoxins and presence of HAB events in Peru: current status. In: Villalba A., B. Reguera, J.L. Romalde, R. Beiras (Eds.) Proc. 4th Int. Conference on Molluscan Shellfish Safety. Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos da Xunta de Galicia and IOC-UNESCO, Santiago de Compostela, pp. 203–210

- Balech E. & B. Mendiola. 1977. Un nuevo *Gonyaulax* productor de hemotalasia en Perú (Protozoa, Dinoflagellata). *Neotropica* 23:49-54.
- Balech E. 1989. Redescription of *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) type species of the genus *Alexandrium*. *Phycologia*, 28, 206-211. DOI: <http://dx.doi.org/10.2216/i0031-8884-28-2-206.1>
- Balech E. 1995. The Genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata), Sherkin Island Marine Station, Ireland. 151 pp.
- Bárcena V.R., J.C. López, J. Rojas Fox, M. Baylon Coritoma, L.M. Sánchez & O. Flores-Salmón. 2013. Harmful Algae News. *Alexandrium tamiyavanichi* on the north coast of Perú. An IOC Newsletter on Toxic Algae and Algal Blooms. No. 47: 24-25.
- Bolch C.J., S.I. Blackburn, J.A. Cannon & G.M. Hallegraeff. 1991. The resting cyst of the red-tide dinoflagellate *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *Phycologia* 30: 215-219. DOI: [10.2216/i0031-8884-30-2-215.1](http://dx.doi.org/10.2216/i0031-8884-30-2-215.1)
- Brown L., E. Bresnan, J. Graham, J.P. Lacaze, E. Turrell, et al. 2010. Distribution, diversity and toxin composition of the genus *Alexandrium* (Dinophyceae) in Scottish waters. *European Journal of Phycology* 45: 375-393. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09670262.2010.495164>
- Franco J.M., S. Fraga, M. Zapata, I. Bravo, P. Fernandez & I. Ramilo. 1995. Comparison between different strains of genus *Alexandrium* of the minutum group. Pp. 53-58. In: Harmful marine algal blooms. Lassus P.; G. Arzul, E. Erad, P. Gentien, C. Marcalou (Eds.) Paris, Lavoisier Intercept Ltd.
- Fritz L & R.E. Triemer. 1985. A rapid simple technique utilizing calcofluor white M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *Journal of Phycology* 21: 662-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-3646.1985.00662.x>
- Guillen O, R Aquino, B Valdivia & R Calienes. 1978. Contaminación en el Puerto del Callao. Instituto del Mar del Perú. Informe N° 62. Callao- Perú.
- Halim Y. 1960. *Alexandrium minutum*, n. gen. n. sp. dinoflagellate provocant des eaux rouges. *Vie Milieu*, 11, 102-105.
- Hansen G, N Daugbjerg, & J.M Franco. 2003. Morphology, toxin composition and LSU rDNA phylogeny of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from Denmark, with some morphological observations on other European strains. *Harmful Algae* 2: 317-335. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1568-9883\(03\)00060-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1568-9883(03)00060-X)
- Honsell G. 1993. First report of *Alexandrium minutum* in the Northern Adriatic waters (Mediterranean Sea). In: T.J. Smayda & Y. Shimizu (eds.), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*, Elsevier, Amsterdam: 127-132.
- Leaw, C.P., P.T. Lim, B.K. Ng, M.Y. Cheah, A. Ahmad & G. Usup. 2005. Phylogenetic analysis of *Alexandrium* species and *Pyrodinium bahamense* (Dinophyceae) based on theca morphology and nuclear ribosomal gene sequence. *Phycologia* 44: 550-565. DOI: [http://dx.doi.org/10.2216/0031-8884\(2005\)44\[550:PAOASA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2216/0031-8884(2005)44[550:PAOASA]2.0.CO;2)
- Lim P.T et al. 2007. Toxic *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from Vietnam with new gonyautoxin analogue. *Harmful Algae*, 6 : 321-331. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2006.04.004>
- Lim P.T, C.P Leaw, G. Usup, A. Kobiyama, K. Koike & T. Ogata. 2006. Effects of light and temperature on growth, nitrate uptake, and toxin production of two tropical dinoflagellates: *Alexandrium tamiyavanichii* and *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 42(4),786-799. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00249.x>
- Lilly E.L., K.M Halanych & D.M Anderson. 2005. Phylogeny biogeography and species boundaries within the *Alexandrium minutum* group. *Harmful Algae* 4, 1004-1020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2005.02.001>
- McCauley L. A. R., Erdner, D. L., Naga, S., Richlen, M. L. & Anderson, D. M. 2009. Biogeographic analysis of the globally distributed harmful alga bloom species *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) based on rRNA gene sequences and microsatellite markers. *Journal of Phycology*: 45: 454-463. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00650.x>
- MacKenzie L & N Berkett. 1997. Cell morphology and PSP-toxin profiles of *Alexandrium minutum* in the Marlborough Sounds, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 31:403-409 DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/00288330.1997.9516773>
- Montresor M, D Marino, A Zingone & G Dafnis. 1988. Three *Alexandrium* species from coastal Tyrrhenian waters (Mediterranean Sea). Pp. 82-87 in: *Toxic marine phytoplankton*. Graneli E., B. Sundstrom, L. Edler, D.M. Anderson (Eds.) New York, Elsevier Science Publishing Co. Inc. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2005.09.002>
- Nascimento S. M., Purdie, D. A., Lilly, E. L., Larsen, J., Morris, S., 2005. Toxin profile, pigment composition, and large subunit rDNA phylogenetic analysis of an *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) Strain isolated from the Fleet Lagoon, United Kingdom. *Journal of Phycology* 41: 343-353. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.03088.x>
- Ochoa N, O Gómez, S Sánchez & E delgado. 1999. Diversidad de diatomeas y dinoflagelados marinos del Perú. Instituto del mar del Perú. Vol. 18 / Nos 1 y 2 / diciembre 1999.
- Odebrecht C. 2010. Dinophyceae. In: Forzza R.C. [Ed.] *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*. Vol. 1. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Andrea Jakobsson Estúdio, Rio de Janeiro, pp. 366-83.
- Penna A., Fraga S., Masó M, Giacobbe M.G., Bravo I., Garcés E, Vila M., Bertozzini E., Andreoni F., Luglié A., Vernesi C. 2008. Phylogenetic relationships among the Mediterranean *Alexandrium* (Dinophyceae) species based on sequences of 5.8S gene and Internal Transcript Spacers of the rRNA operon. *European Journal of Phycology* 43: 163-178 DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09670260701783730>
- Ranston E.R, D.F Webber & J Larsen. 2007. The first description of the potentially toxic dinoflagellate, *Alexandrium minutum* in Hunts Bay, Kingston Harbour, Jamaica. *Harmful Algae* 6, 29-47. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2006.05.006>
- Reguera B. 2002. Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano. E.A. Sar, M.E. Ferrario y B. Reguera (Eds.). Instituto Español de Oceanografía: 21-54.
- Steidinger, K.A. 1979. Collection, enumeration and identification of free-living marine dinoflagellates. In: Taylor D.L & H.H. Seliger (Eds). *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier, Amsterdam. pp. 434-442.
- Utermöhl H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 9:1-38.
- Vera G, S Fraga, J.M Franco & G Sánchez. 1999. Primer registro en el Perú del dinoflagelado *Alexandrium affine* Inoue y Fukuyo. *Inf. Prog. Inst. Mar Perú* 105: 3-12.
- Vila M., M.G. Giacobbe, M. Masó, E. Gangemi, A. Penna, N. Sampedro, Filippo Azzaro, J. Camp, y L. Galluzzi. 2005. A comparative study on recurrent blooms of *Alexandrium minutum* in two Mediterranean coastal areas. *Harmful Algae* 4 673-695. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2004.07.006>
- Zardoya R, E Costas, V Lopez-Rodas, A Garrido-Pertierra & J.M Baustista. 1995. Revised dinoflagellate phylogeny inferred from molecular analysis of large-subunit ribosomal RNA gene sequences. *J. Mol. Evol.* 41, 637-645. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00175822>