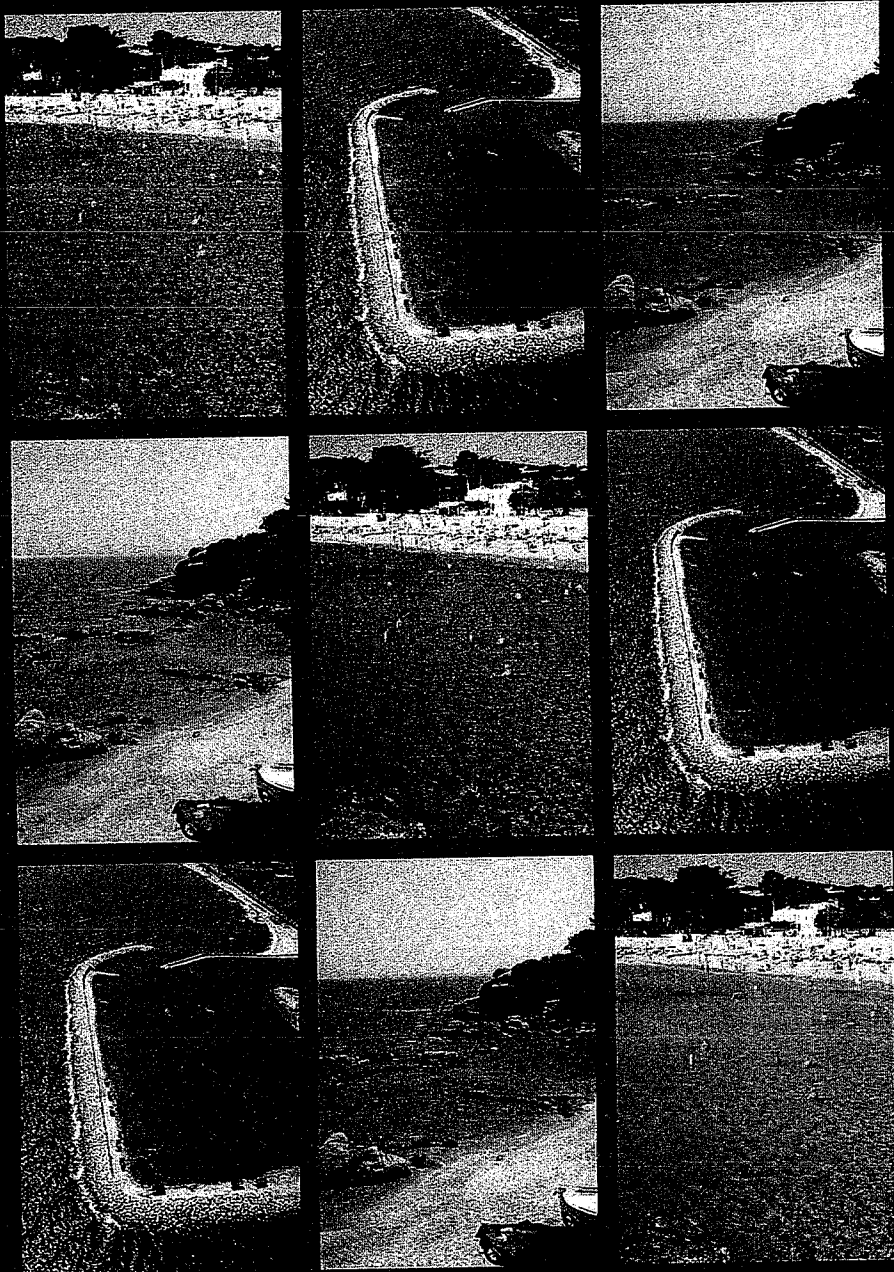


Proliferacions algals nocives a la costa catalana



Magda Vila Reig
2001

Universitat de Barcelona
Facultat de Biologia – Departament d'Ecologia

Proliferacions Algals Nocives a la costa Catalana

**Harmful Algal Blooms in the Catalan coast
(NW Mediterranean)**

Magda Vila i Reig

Tesi Doctoral

Universitat de Barcelona

Facultat de Biologia – Departament d'Ecologia

Programa de doctorat: Ciències del Mar. Bienni: 1995-1997

Proliferacions Algals Nocives a la Costa Catalana

Harmful Algal Blooms in the Catalan Coast

Memòria presentada per Magda Vila i Reig per optar al títol de doctora en Biologia en el Departament d'Ecologia – Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, sota la direcció del Dr. Maximino Delgado i Morán i del Dr. Jordi Camp i Sancho.

Magda Vila i Reig
Barcelona, Juliol de 2001

Vist-i-plau
Dr. Maximino Delgado i Morán
El director de la tesi
Centre d'Aqüicultura-IRTA

Vist-i-plau
Dr. Jordi Camp i Sancho
El director de la tesi
ICM-CSIC

Vist-i-plau
El tutor de la tesi
Facultat de Biologia-UB

Als meus pares, el Josep i la Carmen

Al Toni

AGRAÏMENTS

Ha arribat el moment que havia desitjat els darrers mesos, trobar-me davant d'un full en blanc i posar-hi com a títol: AGRAÏMENTS. Miro enrere i començo a passar revista a la manera com va començar tot, a les circumstàncies i a tots vosaltres, que heu estat al meu costat al llarg d'aquest camí. La veritat és que m'ho he passat molt bé.

Primerament voldria agrair als meus pares que m'hagin donat l'oportunitat d'estudiar i el suport que he rebut d'ells al llarg de tots aquests anys. Una vegada tots vam assumir que escollís una carrera, diguem-ne, *sense un futur gaire clar*, vosaltres em va fer entendre que és possible aconseguir el que una es proposa. És qüestió de voler-ho amb molta força i invertir-hi l'energia suficient. De fet, sou una mica responsables que em dirigís cap aquí, vosaltres m'heu transmès aquesta sensibilitat per la natura i la curiositat per tot allò que hi passa... (us recordeu d'aquelles sobretaules, mig seriosament, mig de broma, sobre el moviment continu?...). Sigui pel que sigui, de mica en mica es va despertar en mi el *cuquet* de la curiositat i el fet de preguntar-me per què les coses són com són... I aquí em teniu, embolicada amb aquesta història, que en molts moments he pensat que era inacabable.

Els màxims responsables d'aquest treball són el Maxi Delgado i el Jordi Camp, els meus directors. Vosaltres em va iniciar en el camp de la biologia marina i de les petites dinoflagel·lades, i, ves per on, em va agradar. Us estic molt agraïda que m'hàgiu donat l'oportunitat i la confiança de fer aquest treball. A tots dos us agraeixo que hàgiu compartit amb mi les vostres idees i que hàgiu estat disposats a escoltar-me sempre que ho he necessitat. El Maxi em va iniciar a posar un nom per a cada cosa i em va *patir* sobretot al principi, quan jo no diferenciava un *Alexandrium* d'una *Scrippsiella* (un ou d'una castanya, perquè ens entenguem). El Jordi m'ha aportat una visió àmplia de les coses. Tot sovint li he admirat l'habilitat que té per donar «color» a una determinada història, i m'ha fet veure que això és tan simple (i complicat alhora) com donar-li la volta.

Gràcies per les coses que he après al vostre costat!

He tingut sort que em toqués treballar amb l'Esther i la Memé. La veritat és que no sé com agrair-los tot el seu ajut. Després que em tornéssiu els treballs plens de vermell, he començat a aprendre com estructurar-los. En aquesta tesi hi ha tant de vosaltres dues... L'Esther té una energia encomanadissa i m'ha donat pressa a escriure, però també m'ha fet afluir durant l'enrenou final. Ha estat, una mica, com la veu de la meva consciència. La Memé ha estat la meva mà dreta en tot allò relacionat amb l'estadística. Ella és la responsable que m'acabés ficant en temes d'anàlisi multivariant, i a ella li dec tot el que en sé. Gràcies pel vostre ajut i per la vostra paciència, per les nostres converses de ciència i per les de les coses del dia a dia ... en part m'heu ajudat a sobreviure un final de tesi que ha coincidit amb la bogeria del trasllat d'Institut. Gràcies per la vostra amistat.

Al Joan li agraeixo tots els quilòmetres que ha fet Catalunya amunt, Catalunya avall, al volant de la seva Partner, per portar-me les mostres. Aproximadament surten 57.600 km! Sento molt que l'itinerari hagi estat tan repetitiu: amb aquests quilòmetres hauries fet la volta al món i encara te'n sobriarien! Al llarg d'aquests anys ha anat afinant

l'ull, i quan diu que hi ha una proliferació de dinoflagel·lades, és que són allà!... Amb un ull així, potser que deixem de comptar mostres...

Agraeixo a totes les persones que d'una manera o d'una altra han tingut a veure amb el fet que aquesta tesi arribés a bon port.

A Santi Fraga, por tu entusiasmo y ayuda en todo momento. Por tu opinión sobre algunos capítulos. Por tantos *e-mails* arriba y abajo, consejos sobre cómo deshidratar los malditos *Ostreopsis*, por las discusiones sobre taxonomía (y por hacerme entender qué poro tiene cada *Alexandrium*)... y también por las tertulias en Dinamarca.

La Marta Estrada sempre ha tingut la porta oberta per solucionar-me dubtes i donar-me l'opinió sobre els treballs que li he anat passant. A més a més, li he d'agrair, però també a la Cèlia Marrasé i al Rafel Simó, que vaig venir a aterrar un bon dia a l'Institut.

Tot el mèrit de la portada és del Pep Gasol, que s'ha entretingut a manipular imatges i al final n'ha sortit una portada tan *guai* com aquesta. També li estic agraïda per la revisió d'algun dels capítols i pel fet de millorar-me'n l'anglès. Finalment, per la seva amistat i pel fet de compartir tants bons moments a la muntanya.

Als professors, als alumnes i als organitzadors del curs de Taxonomia de Fitoplàncton Tòxic de Dinamarca, per tot el que hi he après, i en especial a T. Smayda, pel fet de donar el seu punt de vista sobre el treball del *catenella*. A K. Matsuoka li agraeixo que em proporcionés la informació dels *blooms* d'*A. catenella* al Japó. A S Bates, la seva opinió desinteressada sobre el capítol de les *Pseudos*. El Quique Ballesteros un bon dia em va veure arribar al CEAB carregada de mostres de macroalgues per identificar. Moltes gràcies per la teva ajuda. Així mateix et vull donar les gràcies a tu i a la gent que treballa amb tu per haver-me facilitat les mostres d'*Ostreopsis* al llarg del litoral. A la gent de les Reunions Ibèriques de fito tòxic, perquè dóna ganes d'anar a aquestes Reuniones de Amigos, i en especial al Pepe Franco, al Cacho i a la Teresa Pellicer, a qui agraeixo les anàlisis de toxicitat.

A tots els amics i companys del Departament de Biologia Marina, pel bon ambient que s'hi respira, per les bones estones passades amb vosaltres i pel fet d'estar sempre disposats a donar un cop de mà. En especial, a la Laura pel fet d'agafar el timó del Monitoratge durant els últims mesos de tesi ...y por tu amistad, a l'Elisa (pel fet d'agafar-me més mostres de macroalgues), al Ramon (pel fet d'iniciar-me en l'anàlisi d'imatges), a l'Albert, a les Dolors, al Josep Maria, al Sergi, a l'Emilio, a l'Enric, a la Montse, a la Bea, als Francescs, al Xelu (i les empanades de xoriç), al Víctor, a l'Akira, al Juani... i als més joves, la Nagore, l'Eva, el Dani, el Jordi, la Marta... A la Lluïsa i a l'Alícia, pel fet de guiar-me en el laberint de tràmits d'última hora. A les companyes de despatx: la Pili, la Maria, i més tard l'Elisabetta i la Laure, us vull agrair el vostre ajut i la vostra disponibilitat en tot moment i totes les petites coses que hem anat compartint al llarg dels anys. A la Luisa, per la seva alegria. A la gent d'altres departaments, com ara la Montse Demestre, la Montse Ramon, el Jordi Solé..., per haver-se interessat per la meva feina. A l'Òscar Chic, que pel fet de compartir despatx amb la Memé, m'ha tingut d'*okupa* durant els últims mesos. Al José Manuel Fortuño, pels mil consells sobre microscòpia electrònica i per la seva disposició a donar-me un cop de mà a tota hora. Al José María, per la seva ajuda en els dibuixos i en els mapes. Al Roberto, pel fet d'ajudar-me en els

temes de fotografia. A la Roser, per l'anàlisi de nutrients. Permeteu-me aquí que recordi l'entranyable Antònia, que, com deia ella, «tan pronto planchaba un huevo como freía una camisa». L'Àlex i l'Evili m'han salvat de més d'un ensurt amb l'ordinador. A les bibliotecàries i a la Cati, pel fet de facilitar-me la feina. Al personal del Centre d'Aqüicultura del Delta de l'Ebre i a la Direcció General de Pesca Marítima (pels mostrejors dels primers temps). Al personal del Departament de Medi Ambient del port de Barcelona, en especial al Jordi Vila, pel fet de facilitar-nos la feina, i al Javier Romo, pel fet de compartir les campanyes al port. Al personal de l'Agència Catalana de l'Aigua del Departament de Medi Ambient de la Generalitat de Catalunya, en especial a la Mariona de Torres, pel suport i per la consolidació del Programa de monitoratge. També vull agrair al Jordi Sacristán i a la Maria José Corrales que em facilitessin la feina en tot moment. Al Servei de Llengua Catalana de la Universitat de Barcelona, en especial a la Núria Castells i al Lluís López, per la correcció del català d'aquesta tesi.

Tinc molt bon record de les campanyes amb el *García del Cid* (recordeu els abordatges a la cuina amb el grup de nit i els *bocates* de sobrassada i formatgel..., tortugues, dofins, balenes!), de tots vosaltres, tripulació, científics i d'un cap de campanya tan Salat. A l'Institut vaig trobar una sèrie d'amics amb qui comparteixo la passió per la muntanya, amb vosaltres i tota la *colla de comarques* he arribat més amunt del que m'havia plantejat.

A l'Andrea, a l'Eulàlia, a la Glòria i a la Pastora..., pels nostres sopars.

A la Núria, pel fet de tenir-te sempre al meu costat. Al Josep, pel fet d'assumir el paper de germà gran i ajudar-me en *la meva guerra contra els ordinadors*. A la Marta, per les correccions d'anglès d'última hora i pel fet de fer-me sentir acompanyada en família en un altre final de tesi (vinga, Marta, que això ja està fet!). A la Martona, per la seva alegria que et fa oblidar les presses que portes... i als avis, que sempre m'han recordat que saber no ocupa espai. A la família de Barcelona ... d'Horta, vull dir, pels ànims i per tants dinars en aquests últims temps en què la tesi ja s'acaba... però no s'acaba mai. I als amics, els de tota la vida i els més recents, que us heu anat interessant a saber com anava la meva vida amb *els fitoplànctons i els musclos*.

A tu, Toni, t'agraeixo la paciència que has tingut al llarg de tots aquests anys, i sobretot en els últims mesos. Per haver fet el sopar tantes vegades mentre jo estava enganxada a l'ordinador...; ara mateix surt una oloreta més bona de la cuina... I per haver-me obligat a desenganxar-me de l'ordinador de tant en tant amb propostes com: aquest cap de setmana vaig al Pirineu, véns? També pel fet de compartir amb mi les vacances a la platja amb xarxes de *fito* i pots de lugol.

Per tot això us vull agrair que m'hàgiu fet costat.

(...ah!, i a l'Antoni Basses i al Xavier Grasset, pel fet de mantenir-me informada i entretinguda al llarg de tantes hores que he passat enganxada al microscopi).

INTRODUCCIÓ GENERAL	2
OBJECTIUS I CONTINGUT DE LA TESI	16
Capítol 1: High Resolution Spatio-temporal Detection of Potentially Harmful Dinoflagellates in Confined Waters of the NW Mediterranean	21
Capítol 2: Is the distribution of the toxic dinoflagellate <i>Alexandrium catenella</i> expanding along the NW Mediterranean coast?	45
Capítol 3: First Detection of Widespread Toxic Events caused by <i>Alexandrium catenella</i> in the Mediterranean Sea through a Monitoring Harbour Programme	63
Capítol 4: Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean	73
Capítol 5: Temporal and spatial distribution of the species of the diatom genus <i>Pseudo-nitzschia</i> (Bacillariophyceae) in Catalan coastal waters	91
Capítol 6: Phytoplankton assemblages in confined waters of the North-Western Mediterranean	110
CLOENDA	136
CONCLUSIONS	146
BIBLIOGRAFIA	150
ANNEXE	164
RESUM DE LA TESI	170

"...totes les aigües del riu es varen tornar sang,
i els peixos que hi havia en el riu varen morir,
i el riu va començar a fer pudor,
i els egipcis no varen poder beure aigua del riu"
Èxode 7: 20-21

INTRODUCCIÓ GENERAL

L'escenari mediterrani

El Mediterrani ha estat considerat, tradicionalment, com un mar pobre en nutrients i, en conseqüència, poc favorable per al desenvolupament de mareas roges. Aquesta visió es deu en part a la generalització a tot el mar de les condicions de mar obert i lluny de la costa, i en part a l'escassa atenció que han merescut les aigües litorals pròximes des d'un punt de vista físico-químic (a excepció de les aigües estuarines).

El Mediterrani és realment pobre en nutrients, durant la major part de l'any, a la major part de la seva zona fòtica. Si ens cenyim a les aigües costaneres, entenent com a tals les que cobreixen les plataformes continentals, el panorama no canvia gaire, però sí que ho fa radicalment quan considerem la franja d'aigües somes que estan en contacte directe amb el continent. Així, si els valors típics de les aigües superficials mediterrànies per a nitrogen inorgànic dissolt (DIN), fosfat (PO_4) i silicat (SiO_4) són al voltant de 2,6, 0,1 i 0,6 $\mu\text{mol l}^{-1}$, la major part de l'any, a les aigües somes en contacte amb la costa, aquests valors augmenten molt. Encara que hi ha una notable variabilitat espaciotemporal, els valors mitjans passen a ser, respectivament, de 37, 1,5 i 7,2, i els més freqüents, de prop de 5, 0,3 i 3,3 $\mu\text{mol l}^{-1}$ (Olivos, 2000).

La relació entre nutrients és de rellevància per a les proliferacions algals nocives (PAN) (Justic *et al.*, 1995). Les relacions N/P a la nostra costa (Masó *et al.*, 2000) indiquen generalment un cert dèficit de P (o almenys, un no-excés de N), i el seu valor mitjà és pròxim a 20, amb una distribució irregular al llarg del litoral. A la major part d'aquest són freqüents valors d'entre 20 i 50, que indiquen un dèficit de P, mentre que en trams costaners amb una densitat de població elevada, com la comarca del Barcelonès (de 3 10^6 habitants en 30 km de costa), els valors de la relació N/P poden ser entre 5 i 10. Les relacions DIN/Si estan habitualment per sobre d'1, amb un valor mitjà de 5 que posa de manifest un notable avantatge teòric de les proliferacions de dinoflagel·lades enfront de les de diatomees (que necessiten el Si per la formació del frústul o cobertura que envolta la cèl.lula). Per tant, les aigües litorals pròximes del Mediterrani tenen una quantitat apreciable de nutrients amb una estequiometria favorable al desenvolupament de dinoflagel·lades per sobre de diatomees.

En tractar problemes d'aigües costaneres s'han de considerar dos aspectes: les entrades o aportaments i els temps de residència o de renovació de les aigües. L'antropització del litoral té conseqüències importants sobre aquests dos aspectes. D'una banda, la densitat de població elevada va unida amb un augment dels vessaments de nutrients que enriqueixen notablement les aigües costaneres, i de l'altra, es genera al mateix temps una demanda d'aigües tranquil·les, és a dir, confinades, per a diferents usos. Així, en les últimes dècades, a Catalunya s'ha experimentat una important modificació-artificialització de la línia de la costa. La demanda creixent de zones arrezerades, bàsicament per al lleure públic, s'ha traduït en la creació de nombrosos espigons i ports esportius. Actualment hi ha a la costa catalana uns 217 km d'espigons i altres obres costaneres, i més de 40 ports, que al llarg de 400 km lineals de costa representen una mitjana d'un port cada 10 km. Aquesta situació no difereix gaire de la d'altres zones del Mediterrani nord-occidental. Per tant, avui les costes mediterrànies són plenes de multitud d'àrees confinades i amb baixes taxes de renovació de l'aigua, que abans no existien. Si a més a més tenim en compte que, a diferència de l'Atlàntic i d'altres oceans, el Mediterrani no presenta un important forçament de marea (< 20 cm), el temps de residència de l'aigua en aquests ambients confinats pot ser elevat. Si unim amb això la capacitat de les aigües confinades d'actuar com a trampes de sedimentació i la característica de moltes dinoflagel·lades per fer cists de resistència, s'intueix que pot existir una problemàtica potencial de proliferacions de dinoflagel·lades en aquestes àrees.

Margalef proposa en el seu *mandala* (Margalef, 1978; Margalef *et al.*, 1979, figura 1) una distribució de diferents grups d'algues segons les característiques químiques (disponibilitat de nutrients) i físiques (turbulència) de les aigües, en les quals les proliferacions de dinoflagel·lades es trobarien en el quadrant caracteritzat per elevades concentracions de nutrients i baixa turbulència. Ambdues característiques coexisteixen en les aigües confinades.

Es veu, doncs, que la visió tradicional que havia considerat el mar Mediterrani com un ecosistema oligotròfic amb poca probabilitat d'ocurrència de marees roges no té sentit actualment pel que fa a la franja costanera. Els fets mostren, tal com s'exposa al llarg d'aquesta memòria, que sobre el litoral sovintegen les proliferacions algals. En aquesta tesi es posa de manifest que les característiques actuals de la nostra costa permeten l'establiment i la proliferació de dinoflagel·lades en aquests ambients confinats. És més, si acceptem el *mandala* de Margalef, aquest fet és previsible en el mar que hem creat.

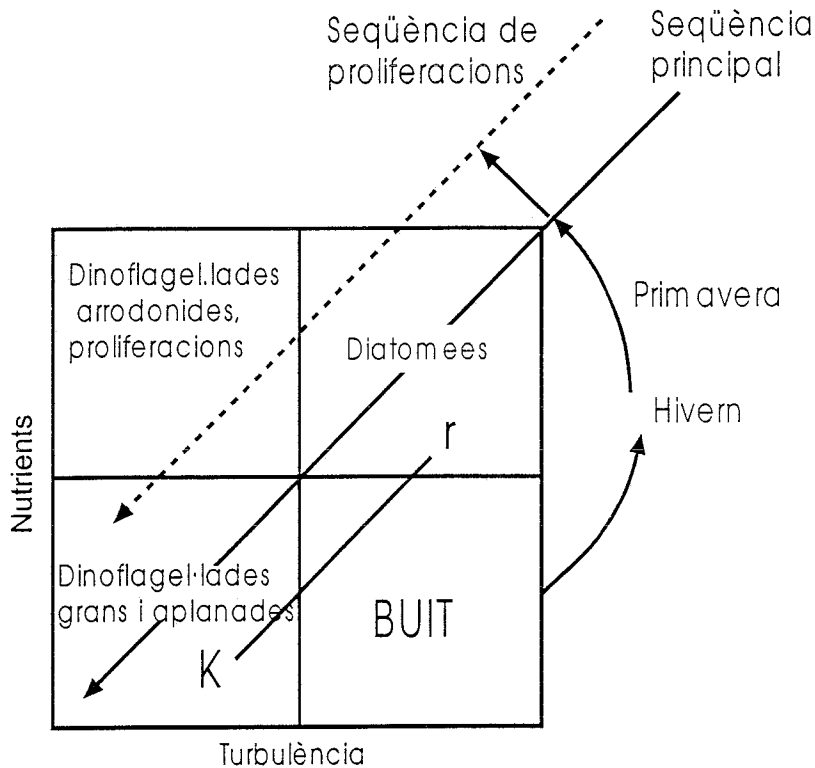


Figura 1. Mandala de Margalef.

Al Mediterrani occidental, la franja de costa que toca a terra va ser àmpliament estudiada sobretot durant els anys 40-70 (Margalef, 1945; Margalef, 1965; Margalef, 1966; Margalef and Ballester, 1967; Margalef, 1968; Margalef, 1969; López and Arté, 1971; López and Arté, 1972, Estrada, 1972; Estrada, 1979; Estrada, 1980, Establier *et al.*, 1986). Pel que fa al fitoplàncton tòxic o nociu hi ha estudis recents concrets en determinades àrees costaneres de Catalunya (Delgado *et al.*, 1990; Garcés *et al.*, 1999a; Garcés *et al.*, 1999b), però fins ara no s'havia agafat la costa catalana com a àrea d'estudi extensiu. Això s'aborda aquí particularment com a conseqüència de la necessitat de controlar les proliferacions nocives d'algues, però els resultats i els coneixements assolits transcendeixen una simple tasca de monitoratge.

Definició de mareas roges, descoloracions, PAN o HAB

Si les condicions són les adequades, el fitoplàncton pot créixer amb taxes de divisió (μ) elevades, que, juntament amb les estratègies migratòries dels mateixos organismes (ex.: dinoflagel·lades) i amb factors físics d'acumulació, poden crear **taques** o **franges** a l'aigua, molt denses i acolorides. Tal com es detalla en l'apartat «*Blooms* de biomassa elevada», quan decau el *bloom* es pot produir un esgotament de l'oxigen dissolt i la consegüent mort de la flora i de la fauna bentòniques. Si l'anòxia té lloc en una àrea d'aqüicultura (bassa o estructura flotant al mar) d'on els peixos no poden escapar, es produirà la mort dels organismes pelàgics.

Tot i que les **proliferacions** o *blooms* que donen coloració a l'aigua es coneixen popularment amb el nom de **marees roges**, no tenen res a veure amb les mareas, i el color que pren el mar no solament pot ser vermell. Pot ser marró, groc, verd o lletós; tot dependrà dels pigments dominants de l'alga que prolifera. És per això que seria millor utilitzar el terme **descoloració** en comptes de marea roja.

Aquestes proliferacions o *blooms*, tot i ser molt vistoses, sovint són innòcues. En canvi, al fitoplàncton hi ha determinades **espècies productores de toxines** que poden manifestar la seva nocivitat fins i tot en concentracions cel·lulars molt baixes, molt lluny de produir coloració a l'aigua. Però així, què entenem per un *bloom*? En general, quan es parla d'un *bloom*, se sobreentén una densitat molt elevada d'organismes. Però segons Smayda (Smayda, 1997a), davant un augment de la concentració basal d'espècies potencialment tòxiques o nocives parlarem de **HAB** (de l'anglès *harmful algal blooms*, que hem traduït per **PAN, proliferacions algals nocives**). El terme anglès va ser introduït en la Primera Conferència Internacional de Blooms de Dinoflagel·lades Tòxiques (1974). A partir de llavors, el terme proliferacions algals nocives (PAN) engloba tant les mareas roges o descoloracions com les proliferacions tòxiques o nocives. Els efectes nocius són, en un sentit ecològic sobre l'ecosistema marí, i en un sentit antropocèntric sobre la salut pública, sobre les pesqueries i sobre el turisme (on comporten importants pèrdues econòmiques).

El nombre d'espècies de fitoplàncton estimades oscil·la entre **3.400 i 4.100**. Prop de 300 espècies (el 7 % de les 3.400-4.100 espècies) han estat descrites com a formadores de mareas roges, incloent-hi diatomees, dinoflagel·lades, silicoflagel·lats, primnesiofícies i rafidofícies

(Sournia, 1995). Excloent-ne les diatomees, el nombre queda en prop de 200 espècies. De totes maneres, la major part de les espècies formadores de marees roges no produeixen *blooms* tòxics o nocius. Dels milers d'espècies de fitoplàncton existents només 60-80 espècies (2 %) són responsables d'episodis nocius o tòxics com a conseqüència de les seves biotoxines, dany físic, anòxia, reducció de la irradiància, etc. D'aquestes, les espècies flagel·lades representen un 90 %, i dins de les flagel·lades, les dinoflagel·lades representen un grup particularment tòxic o nociu. Les dinoflagel·lades representen un 75 % (45-60 tàxons) de totes les espècies responsables de proliferacions algals nocives (PAN) (Smayda, 1997). Entre 10 i 12 espècies són les principals responsables de l'actual extensió i expansió regional de PAN en el mar (Smayda, 1990; Hallegraeff, 1993; Andreson, 1989).

Podem classificar les PAN en quatre grans grups: espècies productores de biotoxines («*blooms* tòxics»), espècies que maten peixos, *blooms* de biomasses elevades i *blooms* de cianobacteris que produeixen toxines (EUROHAB, 1999).

Espècies productores de biotoxines («blooms' tòxics»)

Diverses espècies de fitoplàncton marí (unes 20 espècies) produeixen potents compostos tòxics (biotoxines). Aquestes toxines poden passar a través de la xarxa alimentària, acumular-s'hi i concentrar-s'hi, de manera que afecten els depredadors, incloent-hi l'home. Degut a aquesta concentració, manifesten el seu efecte nociu fins i tot en concentracions algals molt inferiors a les que produeixen descoloracions. El cas més freqüent està relacionat amb l'acumulació de toxines als mol·luscs filtradors, que, tot i que generalment no afecten la viabilitat dels bivalves, s'acumulen en els seus teixits i, quan aquests mol·luscs contaminats són ingerits per l'home, aquest pot patir una sèrie de trastorns. Els clàssics són l'enverinament paralitzant pel consum de mol·luscs bivalves o PSP (de l'anglès *Paralytic Shellfish Poisoning*), l'enverinament diarreic pel consum de mol·luscs bivalves o DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning*), l'enverinament amnèsic pel consum de mol·luscs bivalves o ASP (*Amnesic Shellfish Poisoning*, també conegut com enverinament per àcid domoic o DAP, de *Domoic Acid Poisoning*), l'enverinament neurotòxic pel consum de mol·luscs bivalves o NSP (*Neurotoxic Shellfish Poisoning*) i l'enverinament per ciguatea degut al consum de peixos o CFP (*Ciguatera Fish Poisoning*) (Shumway, 1990; Taylor, 1990), que a continuació veurem en detall. Però n'existeix un nombre molt elevat i se'n descobreixen de noves amb una certa freqüència. L'últim és l'enverinament per l'azaspiracid o AZP (*Azaspiracid Poisoning*).

Un tema en què no entrarem és el paper ecològic de les toxines. Aquest és un tema poc clar que està en discussió. D'una banda, s'ha proposat com a producte del metabolisme secundari en situacions de deficiència de fòsfor (Margalef, 1998), i de l'altra, hi ha diversos autors que no atribueixen la toxicitat als mateixos organismes sinó a l'associació de les algues amb determinats bacteris (Carrasquero-Verde, 1999; Imai and Nishitani, 2000). Sigui com vulgui, sembla que aquesta situació pot haver dotat els organismes portadors de toxines d'un cert avantatge ecològic que els permeti assolir elevades concentracions.

BIOTOXINES (Van Dolah, 2000; Satake *et al.*, 2000; Hallegraef *et al.*, 1995)

Les biotoxines marines són responsables d'una gran quantitat d'intoxicacions associades amb el consum de marisc contaminat (bivalves com ara musclos, tellerina, rossellona, marisc en general i fins i tot determinats peixos). En alguns casos, l'exposició als aerosols d'algunes d'aquestes toxines (brevitoxines, toxines de *Pfiesteria*, proliferacions d'*Ostreopsis*) produeixen malalties respiratòries. En una escala mundial les biotoxines algals marines són responsables de més de 60.000 intoxicacions humanes l'any, amb una mortalitat de l'1,5 %. A més a més, són responsables de mortaldats extensives de peixos i de marisc i han estat implicades en episodis de mortaldats de mamífers marins, d'ocells i d'altres animals dependents de la xarxa tròfica marina.

Les biotoxines inclouen una gran varietat de compostos, des dels de baix pes molecular (com són els anàlegs d'aminoàcids, com ara l'àcid domoic, PM = 312) fins a complexes macromolècules policícliques (com la maitoxina, PM = 3.422). Moltes d'aquestes toxines són neurotoxines i totes elles són termostables, per tant, la cocció no disminueix la toxicitat en els aliments contaminats.

Molts dels símptomes resulten de l'exposició simultània de diversos derivats tòxics relacionats, però estructuralment diferents. La potència de les toxines és molt variable, no solament entre diferents classes de ficotoxines, sinó amb congèneres de la mateixa família de toxines.

Les biotoxines marines presenten alguns dels verins naturals més potents que es coneixen, alguns dels quals són més letals (3 ordres de magnitud) que el cianur sòdic.

PSP. És causat per un conjunt de guanidines heterocícliques col·lectivament anomenades saxitoxines (SXT). Hi ha més de 20 anàlegs de saxitoxina que es considera que tenen lloc de forma natural. Les SXT s'acoblen amb afinitat elevada als canals de sodi, inhibint la conductància dels canals i bloquejant l'activitat neuronal. En humans el seu efecte és sobre el sistema nerviós perifèric, i com a resultat es produeix (en menys d'una hora) una sèrie de símptomes típics per PSP (vegeu taula I). La dosi letal en humans és d'1-4 mg SXT equivalents. Com que el marisc pot arribar a contenir 10.000 µg/100 g SXT eq., la ingestió de només pocs exemplars pot ser fatal. En una escala global, hi ha unes 2.000 persones afectades anualment per PSP, amb una mortalitat del 15 %. A més a més, el PSP ha estat implicat en la mort d'ocells i mamífers marins.

Tres gèneres de dinoflagel·lades són responsables de la producció d'SXT: *Alexandrium*, *Gymnodinium* i *Pyrodinium*.

Les dinoflagel·lades productores de PSP es troben en aigües temperades i tropicals. Abans dels anys 70 es creia endèmic de l'Amèrica del Nord (costa est i oest), d'Europa i del Japó. Actualment també té lloc al sud d'Àfrica, a Austràlia, al sud-est asiàtic i l'Índia. Pel que fa a l'Amèrica del Nord, hi ha informes que identifiquen la presència de casos de PSP abans d'aquesta centúria.

DSP. És una intoxicació alimentària produïda pel consum de marisc que consisteix en l'aparició ràpida (3 hores) de símptomes gastrointestinals (vòmits i diarrea) que generalment desapareixen al cap de 2-3 dies. Les toxines diarreiques són una classe de compostos polièters que engloba diferents grups de compostos tòxics: àcid okadaic (OA), dinofisistoxina (DTX-1, DTX-2 i DTX-3), pectenotoxines, proocentrolids, polièter yessotoxines, entre d'altres.

L'àcid okadaic i les dinofisistoxines són potents inhibidors de les proteïnes-fosfatases, que regulen una sèrie de processos metabòlics, com el balanç iònic, la neurotransmissió i la regulació del cicle cel·lular. La diarrea associada amb el DSP es deu a la hiperfosforilació de les proteïnes en l'epiteli intestinal i en resulten un balanç d'aigua deteriorat i una pèrdua de fluids, la qual cosa provoca una inflamació del tracte intestinal i diarrea. El potencial tòxic de l'àcid okadaic és molt menor que el dels polièters neurotòxics. Tot i que el mecanisme d'acció de la resta dels compostos del DSP (que no causen diarrea) no ha estat ben establert, alguns han estat descrits

com a promotors de tumors (hepatotoxines). Així doncs, s'ha de provar l'efecte de l'exposició crònica de baixes dosis de toxines DSP en humans i en animals marins (p. ex.: tortugues).

La primera incidència de DSP en humans es va identificar al Japó a la fi dels anys 70, on la dinoflagel·lada *Dinophysis fortii* va ser identificada com a organisme causant. El DSP està àmpliament distribuït amb ocurrences estacionals a Europa i al Japó, però també s'ha detectat a l'Amèrica del Sud, al sud d'Àfrica, a Nova Zelanda, a Austràlia i a Tailàndia.

ASP. Químicament, l'àcid domoic és un compost cristal·lí soluble en aigua que presenta propietats típiques dels aminoàcids àcids. L'àcid domoic va estar descrit i aïllat originàriament d'una macroalga vermella: *Chondria armata*. L'àcid domoic pertany a un grup d'aminoàcids anomenats kainoids (àcid kaínic, aïllat d'una altra macroalga vermella, la *Digenea simplex*). Tant l'àcid domoic com l'àcid kaínic actuen com a agonistes de l'àcid glutàmic, tant al cervell com al sistema nerviós central. Per tant, són neurotoxines o excitotoxines que s'interfereixen amb els mecanismes de neurotransmissió en el cervell.

La primera descripció d'una intoxicació en l'home deguda a l'ASP va ser l'any 1987 al Canadà est, causada pel consum de musclos contaminats. S'hi van produir 107 hospitalitzacions, de les quals 14 persones presentaven severes enverinaments neurològics, i 4 persones van morir. Cap de les toxines conegudes fins aleshores no estava implicada en l'incident. L'àcid domoic va ser identificat com l'agent tòxic, el qual es va detectar en concentracions molt altes (1.000 µg/g teixit comestible). Es va demostrar que l'agent causant era la diatomea *Pseudonitzschia pungens* f. *multiseriis*. Fins en aquell moment es creia que les biotoxines eren produïdes únicament per dinoflagel·lades, i les diatomees no havien estat considerades com una font potencial de biotoxines. Al setembre de 1991 la mort inexplicable de pelicans i cormorans a la badia de Monterrey (Califòrnia) es va atribuir posteriorment a un altre episodi d'enverinament per àcid domoic. En aquest cas l'espècie responsable era la diatomea *Pseudonitzschia australis*, que va ser consumida per anxoves, les quals van ser consumides pels ocells. A partir d'aquí es va identificar com l'agent tòxic per ASP en altres indrets del món (golf de Mèxic, Dinamarca, Nova Zelanda i, darrerament, al Mediterrani). Els símptomes són neurològics i gastrointestinals, tal com es detalla a la taula I. No es coneix l'efecte de l'exposició repetida a baixes dosis d'àcid domoic. L'obligatorietat de controlar la toxicitat per ASP és ben recent (1998).

NSP. Està causat per brevitoxines produïdes per la dinoflagel·lada *Gymnodinium breve*. Químicament, les brevitoxines són compostos polièters cíclics solubles en lípids. Fins en aquest moment s'han caracteritzat fins a 8 brevitoxines (de PbTx-1 a PbTx-8). A causa de la labilitat d'aquests compostos, la seva analítica és problemàtica.

Exerceixen el seu efecte tòxic per un enllaç específic a la posició-5 dels canals de voltatge dependents de Na⁺, donant una activació del canal a potencials normals de repòs.

L'NSP es coneix des de 1844 i es creia endèmic del golf de Mèxic i de la costa est de Florida. Una característica de *Gymnodinium breve* és que per l'acció de les ones produeix aerosols que poden causar símptomes respiratoris similars a l'asma en humans. Però les brevitoxines també s'acumulen en marisc, que quan es consumeix produeix símptomes similars a les intoxicacions per PSP (vegeu taula I).

CFP. En mars tropicals (a les illes del Pacífic sud, al Carib i a Austràlia, a la zona de la Gran Barrera d'Esculls) hi ha dinoflagel·lades bentòniques, epífites de coralls i macroalgues que produeixen neurotoxines (ciguatoxina i maitotoxina) que s'acumulen a través de la cadena alimentària. Els humans que consumeixen determinats peixos contaminats pateixen problemes, des de trastorns gastrointestinals, picor de pell, desordres cardiovasculars, trastorns neurològics, i en casos extrems poden morir per aturada respiratòria. Aquests símptomes (ciguatera) poden persistir durant mesos i fins i tot fer rebrotades al cap dels anys.

Les toxines són grans molècules polièters amb propietats relativament lipofíliques, com la ciguatoxina (CTX), o relativament polars, com és el cas de la maitotoxina (MTX).

La CTX produeix un increment de la permeabilitat de membrana als ions de Na⁺ obrint els canals de voltatge dependents de Na⁺ i provoca símptomes neurològics en mamífers. L'MTX té un efecte excitador en els canals de voltatge sensibles de Ca⁺⁺.

La principal espècie responsable de les intoxicacions és la dinoflagel·lada *Gambierdiscus toxicus*, però hi ha una gran quantitat de microalgues associades amb aquesta espècie, a les quals es creu que és deguda una part de la toxicitat. A les nostres aigües, *G. toxicus* no hi és present, però en canvi, sí que hi ha concentracions elevades de les espècies acompanyants (*Ostreopsis*, principalment, i *Coolia*, *P. lima* i *P. mexicanum*, de forma molt minoritària).

AZP. A causa d'una sèrie d'intoxicacions humanes (nàusees, vòmits, diarrea...) produïdes per bivalves en certs països del nord d'Europa des de 1995 s'ha descrit una nova síndrome, l'*Azaspiracid Poisoning* (AZP). En el moment en què fou presentada la ponència al IX Congrés Internacional d'HAB no es coneixia l'agent causal de les intoxicacions.

Espècies que maten peixos

Diverses espècies no són tòxiques per als humans, però són nocives per als ecosistemes naturals i per a la indústria de l'aqüicultura, ja que maten els peixos. Les espècies que causen la mort de peixos no formen part d'un grup uniforme, sinó que pertanyen a diferents classes algals. En aigües marines europees s'ha observat la mort de peixos deguda a dinoflagel·lades (*Gymnodinium mikimotoi*, *G. corsicum* i *G. galatheanum*), a haptòfits (*Chrysochromulina* i *Prymnesium*), a rafidofícies (*Chatonella* spp., *Fibrocapsa japonica*, *Heterocapsa akashiwo*, *H. inlandica*), a silicoflagel·lades (*Dictyocha speculum*) i a diatomees (*Chaetoceros convolutus*, *C. calcitrans*) (taula II). Els efectes que produeixen sobre els peixos varia en funció de les toxines que presenten les diferents espècies de fitoplàncton, o bé en el cas de les diatomees del gènere *Chaetoceros* per un efecte mecànic sobre les brànquies.

Així, per exemple, a Catalunya, *G. corsicum* fa *blooms* recurrents durant els mesos d'hivern a la badia dels Alfacs (delta de l'Ebre) des de 1994 (Delgado and Alcaraz, 1999; Garcés *et al.*, 1999b). S'ha observat la mort de dorades (*Sparus aurata*) en basses destinades a l'aqüicultura, i mort de musclos (*Mytilus galloprovincialis*) i fauna diversa, a la badia durant el *bloom*. Això s'ha corroborat amb experiments de laboratori exposant llobarros i aurades amb la comunitat natural durant el *bloom* de *G. corsicum*; a més, s'ha observat que l'efecte letal de la microalga augmenta si es lisen les cèl·lules de *G. corsicum* (Fernández-Tejedor *et al.*, 2001).

G. mikimotoi va ser identificat per primer cop el 1966 en aigües europees i des de llavors fa *blooms* recurrents des de la costa atlàntica espanyola fins a Noruega (Lindahl, 1983; Yasumoto *et al.*, 1990; Elbrachter, 1998) de manera que causa la mort de 3.000 tones de peix engabiats (per a l'aqüicultura) i d'unes 900 tones de musclos.

Dins d'aquest grup, cal fer un esment especial del cas de *Pfiesteria piscicida*. Aquesta dinoflagel·lada es troba en àrees molt eutròfiques i va ser observada per primera vegada a Carolina del Nord el 1989 (es creu que va ser introduïda per aquelles dates, ja que abans no s'havia observat). Presenta un cicle molt complicat que conté unes 24 formes de vida diferent, algunes de les quals en forma de paràsit de peixos (Steidinger *et al.*, 1996). No tan sols produeix la mort massiva de peixos i debilita altres organismes marins sinó que també té efectes tòxics sobre l'home. L'alga produeix una toxina neurològica volàtil molt persistent i

perillosa per a les persones, que produeix des de picor d'ulls, dificultats respiratòries, infecció de coll, dolor articular i muscular, mal de cap i desorientació fins a falta de memòria a curt i llarg termini, tan greu que en un principi es van atribuir a la malaltia d'Alzheimer. Les persones que han estat en contacte amb aquesta alga, com són submarinistes, pescadors, aqüicultors i els científics que la van descriure, han patit, poc o molt, aquesta sèrie de problemes.

Taula I. Diferents espècies tòxiques, principals tipus de toxines i la síndrome i els símptomes que produeixen. En negreta es marquen les espècies identificades a la costa catalana (modificat d'EUROHAB, 1999; Van Dolah, 2000).

Espècies	Síndrome (tipus de toxines)	Símptomes
<i>Alexandrium minutum</i> <i>A. catenella</i> <i>A. tamarene</i> <i>Gymnodinium catenatum</i> <i>Pyrodinium bahamense</i>	PSP (saxitoxina, neosaxitoxina, gonyautoxina, sulfocarbamoil- toxina)	Mal de cap, vertigen, mareig, nàusees, formigueig, paràlisi, i fins i tot la mort per aturada cardíaca o respiratòria
<i>Dinophysis acuminata</i> <i>D. acuta</i> <i>D. caudata</i> <i>D. mitra</i> <i>D. norvegica</i> <i>D. rotundata</i> <i>D. tripos</i> <i>D. sacculus</i> <i>Prorocentrum mexicanum</i> <i>Prorocentrum lima</i>	DSP (àcid okadaic, dinofisistoxines)	Diarrea, nàusees, vòmits, dolor abdominal, hepatotòxic, cardiotòxic; exposicions cròniques promouen formació de tumors en el sistema digestiu
<i>Pseudo-nitzschia multiseriata</i> <i>P. pseudodelicatissima</i> <i>P. australis</i> <i>P. seriata</i>	ASP (àcid domoic)	Neurològics (vertigen, mareig, al·lucinacions, confusió, pèrdues de memòria de curta durada —amnèsia—) i gastrointestinals (nàusees, vòmits, diarrea, rampes abdominals)
<i>Gymnodinium breve</i>	NSP (brevitoxines)	Problemes respiratoris similars a l'asma, irritació de les membranes nasals i oculars per exposició directa als aerosols i per contacte directe amb <i>blooms</i> tòxics en nedar, calfreds, mal de cap, diarrea, vòmits i dolor abdominal, dolor muscular, vertigen, ansietat, suors i formigueig perifèric (pel consum de marisc)
<i>Gambierdiscus toxicus</i>	CFP (ciguatoxina, maitotoxina)	Trastorns gastrointestinals, picor de la pell, desordres cardiovasculars, trastorns neurològics, i en casos extrems poden morir per aturada respiratòria
<i>Nodularia spumigera</i> <i>Microcystis</i> spp. <i>Anabaena</i> spp. <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Toxines cianobacterianes (nodularina, microcistina, saxitoxina, neosaxitoxina)	Debilitat, vòmits, diarrea. Mort deguda a l'acumulació de sang en el fetge i a l'aturada respiratòria

Taula II. Espècies relacionades amb mortaldat de peixos i els efectes i els símptomes que produeixen (modificat d'EUROHAB, 1999).

Espècies	Efectes	Símptomes
<i>Chaetoceros concavicornis</i> <i>Ceratium fusus</i> <i>Gymnodinium mikimotoi</i> <i>Gyrodinium aureolum</i> <i>Noctiluca scintillans</i> <i>Chrysochromulina leadbeateri</i> <i>C. polylepis</i> <i>Phaeocystis pouchetii</i> <i>Chatonella antiqua</i> <i>C. marina</i>	Deteriorament físic de les brànquies dels peixos, inhibint l'absorció d'oxigen	Abrasió de l'epidermis de les ganyes, obstrucció de les ganyes per excés de mucos produït en resposta a substàncies irritants, deteriorament de les làmines mucoses protectores
<i>Chrysochromulina leadbeateri</i> <i>C. polylepis</i> <i>Prymnesium parvum</i> <i>Prymnesium patelliferum</i> <i>Chatonella antiqua</i> <i>C. marina</i>	Deteriorament fisiològic de les brànquies, dels òrgans majors, de l'intestí, dels sistemes respiratori i circulatori, interferència amb l'osmoregulació	Mal funcionament del cervell i del cor degut a la disminució d'oxigen a la sang, deteriorament dels teixits i de les cèl·lules de la sang, mort del peix
<i>Heterosigma carterae</i> (= <i>H. akashiwo</i>)	Toxicitat aguda	Mort de peixos
<i>C. polylepis</i>	Toxicitat aguda	Mort de peixos, de fitoplàncton, de copèpodes, d'estrelles de mar...

'Blooms' de biomasses elevades

Les descoloracions de les aigües (les tradicionalment anomenades *marees roges*) són ocasionades per densitats massives de microalgues, gairebé monoespècífiques. Tot i que n'hi ha moltes que, en si, no són tòxiques, indueixen efectes adversos en els ecosistemes marins, ja sigui per les acumulacions d'escuma i d'agregats de substàncies mucoses o gelatinoses, per l'anòxia que es produeix en degradar-se el *bloom* i que porta a la mort indiscriminada de la vida bentònica marina, per la reducció de la producció de recursos marins explotables o per la pèrdua del valor recreatiu de les regions costaneres (en aquest sentit, alguns *blooms* algals poden desenvolupar reaccions al·lèrgiques a la pell dels banyistes). Generalment aquests *blooms* són deguts a espècies no-silificades, encara que alguns són deguts a algunes diatomees. Aquests *blooms* tenen lloc en aigües costaneres i estan induïts per canvis quantitativs i qualitativs en la relació de nutrients (relació N/P/Si), junt amb altres condicions hidrogràfiques o meteorològiques molt diverses i, en general, mal conegudes.

A Catalunya és ben conegut el cas de la dinoflagel·lada *Alexandrium taylori* (Delgado *et al.* 1997), que es desenvolupa durant els mesos d'estiu en determinades cales de la Costa Brava i de les illes Balears (Garcés *et al.*, 1999b). Les seves descoloracions s'havien associat amb abocaments d'aigües residuals i no va ser fins a l'any 1994 que amb una col·laboració entre el Departament de Medi Ambient i l'ICM es va veure que eren degudes a una microalga amb un cicle de vida particular (Garcés *et al.*, 1998a), a la qual, a part de l'aspecte que dona a la platja i dels problemes en el sector turístic, no se li coneix cap efecte nociu.

Al mar del Nord s'observen *blooms* recurrents de l'haptofícia colonial *Phaeocystis* sp. L'efecte nociu més visible és l'acumulació de capes gruixudes d'escuma (que fan mala olor) a les platges. A la mar Adriàtica s'observen agregats de substàncies mucoses (coneguts a Itàlia com «mare sporco») fonamentalment formades per diatomees, però sovint també s'hi poden observar dinoflagel·lades i microflagel·lades. Sovint afecten àrees extenses i estan associats amb anòxies, amb mortaldats d'organismes bentònics, amb males olors... A part de l'efecte negatiu sobre l'ecosistema marí, també han ocasionat moltes pèrdues en el sector turístic. A les nostres costes es donen varietats d'aquests fenòmens amb menor intensitat.

'Blooms' de cianobacteris que produeixen toxines

Un grup de protistes, els cianobacteris, també són responsables de *blooms* nocius. Aquests poden desenvolupar-se formant biomasses elevades, i molts d'ells són productors de toxines i tenen efectes nocius similars als del grup 1 (taula I). Els cianobacteris són responsables de toxicitat en aigües dolces i salabroses.

A Europa, les primeres citacions relaten morts i malalties humanes per la ingestió de peixos procedents de llacunes amb *blooms* de cianobacteris al llarg de les costes de Suècia, d'Alemanya i de Polònia. Darrerament s'ha donat la mort de gossos i de bestiar a les costes de Suècia i de Finlàndia i a les costes d'Alemanya (al mar Bàltic i al mar del Nord).

Tot i que aquest pot ser un problema important a les aigües dolces del nostre país (sovint en els llacs i en els embassaments s'observen *blooms* de cianobacteris), fins en aquest moment en el mar Mediterrani no s'ha detectat aquests tipus de desenvolupaments. De fet, anirien associats amb aigües estuàries, de baixes salinitats.

Les PAN i la seva vigilància: importància del monitoratge

Els programes de monitoratge de fitoplàncton s'utilitzen per detectar l'inici dels *blooms*, moment en què s'inicien bioassajos de toxicitat en bivalves, i si es requereix, s'arriba al tancament temporal de la zona d'extracció (Taylor *et al.*, 1994). En els països costaners d'arreu del món el marisc pot causar problemes en la salut humana, i la seva recollida pot ser tancada en determinades èpoques de l'any.

Encara que aquesta era la visió tradicional, el fet que els efectes del fitoplàncton puguin afectar el medi ambient i l'home per camins diversos (provoca mort de fauna, deteriora la qualitat aparent d'una aigua o afecta la salut de les persones directament, al marge de les cadenes alimentàries) fa reconsiderar arreu del món el tractament a donar al problema. El fet que els *blooms* de fitoplàncton nociu estiguin reconeguts com el principal problema lligat a l'eutrofització costanera ha dut a la seva integració dins dels plans de vigilància i de control de la qualitat ambiental, i es recull en la nova directiva marc europea de l'aigua.

Atès l'impacte econòmic dels *blooms* de fitoplàncton tòxic, es requereix un coneixement de la composició i de l'abundància estacional de les espècies a les zones destinades a aquicultura i a les àrees amb bancs naturals on es fa l'extracció de mol·luscs, però també en altres indrets on es donin problemes ambientals relacionats. A causa de la variabilitat interanual del fitoplàncton (Margafel, 1968) el coneixement de les possibles regularitats no és possible fins que es disposa de sèries llargues i extensives.

Tot això ens porta a veure que molts dels coneixements adquirits sobre el fitoplàncton s'han assolit paral·lelament i gràcies als monitoratges. La necessitat d'entendre per prevenir ha contribuït de manera important en els camps de la fisiologia, de la genètica, de la taxonomia, dels cicles de vida, etc. Es va començar amb els sistemes de vigilància, es va seguir amb la gestió i ara es comença a treballar amb la mitigació. Com diu Jenkinson (2000), al principi de la investigació de les HAB, no hi havia cap *m*. Ara n'hi ha tres: monitoratge (control), *management* (gestió) i mitigació. Es comença amb el monitoratge: prenent les mostres i aprenent sobre els diferents aspectes de les proliferacions, intentant entendre l'ocurrència i la dinàmica de les algues que les causen. Després es passa a fer *management*: aprendre els passos per prevenir. Aquests passos inclouen punts com fer campanya d'informació (per al

públic en general o per a grups com ara aqüicultors), planejar estratègies de mostreig i de selecció de llocs, prendre mesures per controlar la introducció i el trasllat d'organismes marins (aqüicultura, aigua de llast). Més recentment, en l'àmbit internacional, s'ha començat a fer mitigació, per tal d'intentar reduir els efectes de les PAN.

Mentre que les PAN són un seriós problema que s'incrementa, els científics i les agències fins ara han investigat poc en les possibles estratègies de control. Sembla que s'està canviant aquest sentit. Així doncs, ara l'objectiu dels estudis és fer una gestió eficaç i portar a terme una bona investigació per entendre les causes, predir les ocurrencies i mitigar els efectes de les PAN. En el cas de la costa catalana, i en general del Mediterrani, l'increment de les proliferacions de dinoflagel·lades té molt a veure amb la manera com gestionem el mar. Un camí per evitar l'increment és considerar tots els factors implicats en les proliferacions.

DINOFLAGEL·LADA

El prefix *dino-* deriva del verb grec *dino* (δίνω),
que significa 'girar com una baldufa',
i no pas de *deinós*,
que significa 'terrible', com un dinosaure.

L'adjectiu *flagel·lat* ve del fet que tenen dos flagels,
un dels quals fan servir per a la rotació, i l'altre, per a la natació.

OBJECTIUS I CONTINGUT DE LA TESI

Objectius i contingut de la tesi

Un grup de l'Institut de Ciències del Mar es dedica a l'estudi i el seguiment de la problemàtica de les PAN a la costa catalana des de fa 12 anys. És dins d'aquest grup on s'engloba el treball que es presenta en aquesta memòria. L'objectiu és el mateix que el del «grup mundial» que treballa amb PAN, aconseguir els coneixements bàsics sobre la distribució, sobre la successió d'espècies, sobre les tendències de llarga durada i sobre la dinàmica de les poblacions de les espècies formadores de PAN. La idea és que a la llarga es pugui passar d'una advertència primerenca i probabilística a la predicció i a la mitigació de les proliferacions.

No oblidem que tot i que, de manera general, les **marees roges** són fenòmens naturals coneguts des de sempre, les primeres citacions de toxicitat en humans que es relacionen amb espècies concretes del fitoplàncton daten de la fi dels 70 i dels 80. A Catalunya, la primera descripció d'un episodi tòxic data de 1990 (Delgado *et al.*, 1990). Així doncs, estem davant d'un camp relativament jove. Pel que fa a la costa catalana, a excepció dels casos esmentats més amunt (i detallats a l'Annexe), pràcticament no es coneixia res sobre les PAN del nostre litoral. Les bases concretes d'aquesta tesi han estat, doncs, els objectius amb què vam començar a treballar ara fa sis anys:

- Dissenyar, implementar i comprovar un nou sistema de monitoratge, útil per a Catalunya i per al Mediterrani en general. Aquest monitoratge es va basar en el mostreig de les aigües confinades.
- Conèixer les espècies tòxiques o nocives de la nostra costa, la seva incidència i distribució i iniciar una sèrie temporal amb la idea d'establir-la com a definitiva i per tal de crear sèries de llarga durada.

La hipòtesi de treball ha estat l'adaptació del *mandala* de Margalef (Margalef, 1978; Margalef *et al.*, 1979) a les aigües costaneres mediterrànies. L'elevada concentració de nutrients i la baixa turbulència a les aigües confinades, juntament amb els elevats temps de residència de l'aigua i, per tant, una disminució de l'advecció, i l'escàs forçament mareal, fa considerar les aigües confinades mediterrànies com un ambient adequat per al desenvolupament de PAN. Al llarg del període d'estudi, han anat sorgint coses que no

s'havien previst en un inici. Així, es va posar en evidència la necessitat de dedicar esforços al mostreig i estudi d'organismes potencialment nocius d'hàbitat bentònic.

Hem aconseguit, 1) establir un sistema de monitoratge que sembla l'adequat per a la Mediterrània, i 2) descriure les espècies potencialment tòxiques o nocives a la costa catalana (tant planctòniques com bentòniques) i determinar-ne la distribució espaciotemporal. El treball s'ha centrat bàsicament en dinoflagel·lades (tan sols hi ha un capítol dedicat a diatomees), que són les responsables de la major part dels fenòmens nocius a Catalunya. S'ha posat un especial èmfasi en la descripció dels *blooms* (extensos o concrets) d'espècies «noves» o per confirmar (ja fossin al plàncton o al bentos).

Tot això queda reflectit a través de sis capítols que permeten una llegida independent, però que comparteixen un nexa comú.

Al **capítol 1** es presenta el sistema de monitoratge dissenyat per a la nostra àrea d'estudi, així com els resultats obtinguts. S'hi descriuen les espècies potencialment tòxiques o nocives i la seva dinàmica espaciotemporal. Es posa de manifest l'elevada freqüència de *blooms* detectats en aquesta àrea i es contextualitza amb les proliferacions de dinoflagel·lades detectades al Mediterrani. Per les seves característiques (densitat humana i consegüent antropització de la costa, p. ex.: eutrofització i confinament de les aigües més properes —ports i espigons—) la costa catalana pot ser considerada com una part representativa de la costa del Mediterrani nord-occidental. S'hi proposa que el sistema de mostreig, basat en aigües confinades, podria aplicar-se a àmplies zones del Mediterrani on el grau d'antropització és similar al de Catalunya.

La hipòtesi que les àrees confinades creen un important impacte en les comunitats fitoplanctòniques de la nostra àrea d'estudi s'ha materialitzat en el **capítol 2**, referent a la dinoflagel·lada *Alexandrium catenella*. Les particularitats d'aquesta dinoflagel·lada: cicle de vida (cists de resistència) i comportament (migració vertical, formació de cadenes, agregació), poden haver estat la clau per a la colonització, el desenvolupament i el posterior manteniment de *blooms* de la dinoflagel·lada en àrees confinades.

Al **capítol 3** es descriuen els *blooms* extensos de la dinoflagel·lada *A. catenella*, productora de toxicitat PSP, dels anys 1998-99 a la costa catalana. S'hi parla de l'abundància màxima de les seves proliferacions i de la toxicitat associada i es discuteix sobre la variabilitat espacial d'aquests *blooms* (aigües confinades/aigües lliures). Cal remarcar que aquest treball és la primera citació de proliferacions d'àmplia extensió d'aquesta espècie al Mediterrani. A més a més, fins aquest moment es creia que aquest organisme tan sols podia fer *blooms* en aigües fredes.

També s'ha estudiat la comunitat de dinoflagel·lades bentòniques, epífites de macroalgues (**capítol 4**). Aquesta comunitat està dominada per *Ostreopsis* sp. i acompanyada per altres dinoflagel·lades potencialment tòxiques, com ara *Prorocentrum lima* i *Coolia monotis*. S'hi han estudiat l'ecologia i la dinàmica temporal de la comunitat en diverses macroalgues, així com la seva presència a la columna d'aigua i a la sorra. La identificació d'*Ostreopsis*, l'espècie dominant encara no és clara. Per això, actualment estem treballant amb dos laboratoris italians (Centro Biologia Ambientale, de la Universitat d'Urbino, i l'Istituto Sperimentale Talassografico, del CNR) i amb l'Instituto Oceanográfico Español, de Vigo, per tal de portar a terme un estudi taxonòmic i genètic de la possible espècie (o espècies) de la Costa Brava, d'Andalusia i de Sicília.

Al **capítol 5** es presenta la dinàmica espaciotemporal del gènere *Pseudo-nitzschia* (potencialment productor de toxicitat ASP). La determinació a nivell d'espècie s'ha de fer amb microscòpia electrònica d'escaneig (SEM), i això només s'ha pogut fer en situacions de *bloom* (quan hi havia suficient mostra per ser rentada amb àcid). S'han identificat les espècies *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *P. delicatissima* i *P. pungens*. A Sant Carles de la Ràpita, una de les estacions més riques en el gènere *Pseudo-nitzschia*, s'ha analitzat la comunitat de fitoplàncton acompanyant.

Al **capítol 6** es presenta un estudi de la variabilitat espaciotemporal de tota la comunitat fitoplànctònica en nou punts de mostreig durant l'any 1996. D'aquest estudi, en destaquen dos resultats: 1) el factor estacional és el que domina la comunitat fitoplànctònica; 2) a escala global existeix una relació directa entre la mida dels ports (el volum d'aigua confinada i per tant, temps de residència de l'aigua elevats) i la densitat màxima de dinoflagel·lades que hi proliferen.

En la memòria que es presenta, els capítols estan escrits en anglès. El fet de treballar en un tema «calent» com és el de les PAN obliga a la difusió gairebé immediata dels resultats. Per raons òbvies això ha condicionat l'elaboració de la major part de la tesi en anglès i en forma de capítols més o menys independents. Cadascun dels capítols ha estat plantejat amb l'estructura d'articles de revistes científiques. Per la presentació de la memòria s'ha unificat el format, s'ha agrupat la bibliografia en un únic apartat, i s'han fet les conclusions finals de tota la tesi. En un moment es va plantejar fer un capítol de material i mètodes a l'inici de la memòria pensant sobretot en el fet que l'àrea d'estudi és sempre la costa catalana i la metodologia és bastant similar en tots els capítols. Finalment, però, com que les estacions mostrejades i la freqüència de mostreig no són sempre les mateixes, es va decidir que era millor que quedés especificat en cada un dels capítols i així permetria una lectura més clara i independent. D'aquesta manera no es pot evitar una certa repetició que es pot obviar llegint l'apartat de Material i Mètodes del primer capítol (en què s'explica la teoria del mostreig de les àrees confinades) i passant per alt el dels següents capítols, on només es llegiria en el cas d'un interès específic pel mètode.

Després dels capítols s'inclou una **cloenda** en la que s'exposen quatre reflexions sobre les noves preguntes que se'ns plantegen, i les **conclusions** de la tesi. En un **annexe** es presenten els episodis de proliferacions algals nocives més rellevants a la costa catalana durant els darrers anys. Finalment s'inclou un **resum de la tesi** (que resumeix la introducció, els resultats i les conclusions).

CAPÍTOL 1

Vila M, Camp J, Garcés E, Masó M, Delgado M (2001) High resolution spatio-temporal detection of HABs in confined waters of the NW Mediterranean. J Plankton Res 23: 497-514

Capítol 1

High Resolution Spatio-temporal Detection of Potentially Harmful Dinoflagellates in Confined Waters of the NW Mediterranean

Abstract

A systematic sampling programme was carried out in a large number of confined waters (principally harbours) along the Catalan coast (NW Mediterranean) in the context of a new Monitoring Programme. This Monitoring Programme was associated not only with areas subject to aquaculture activities, and therefore under legislation, but also with confined areas with a high risk of harmful algal blooms (HABs) occurrence, in order to provide an early warning of potentially widespread HABs. The systematic programme was performed weekly in summer and bi-monthly in winter for five years. The main results were: (i) the detection of many harmful species and the presence of high numbers of harmful dinoflagellates, mainly of the genera *Alexandrium* and *Dinophysis*; (ii) the detection of *Alexandrium catenella*, new in the study area, which had hardly ever been detected in the Mediterranean Sea; (iii) the presence of some potentially harmful species, including *Dinophysis sacculus*, present at all periods of the year; (iv) bloom recurrence in several stations; (v) occasional coincidence of small-scale blooms, such as those confined inside the harbours, with widespread blooms (mesoscale blooms) of the same organism. The implications of this high frequency of HAB detection is discussed in relation to the suitability of this sampling programme (focused on confined waters) for the early detection of algal blooms.

Introduction

In the last few decades there has been an increase in the recreational exploitation of the Catalan coastline (NW Mediterranean). An example is the regular and notorious increment in man-made sheltered waters. Thus, there are presently in Catalonia more than 40 harbours along 400 km of coast, besides other coastal man-made works of minor significance (Vila *et al.* 2001c, veigeu Capítol 2). Each of these harbours is a modified ecosystem having reduced turbulence, high water residence times and a high nutrient concentration. Furthermore, the harbours are shallow, which could favour the formation and hinders dispersion of nearby cyst seedbeds. As dinoflagellates account for 75% of all harmful algal blooms (HABs) (Sournia 1995; Smayda 1997b) and they grow well in environments with low turbulence (Margalef 1978; Margalef *et al.* 1979), the new Harmful Phytoplankton Monitoring Programme was designed in Catalonia to check phytoplankton in those confined productive areas. The Harmful Phytoplankton Monitoring Programme has been working in the Catalan coast from 1989 to the present, with a weekly frequency at the Ebre Delta bays, the most important shellfish culture site on the Catalan coast. The rest of the coast was sporadically monitored (once every 2–3 months) in non-confined waters from 1991 to 1994. Since 1995, a conceptual change has been implemented in the Monitoring Programme, based on a new concept: sampling confined waters. The frequency and distribution of monitored stations along the coast has been substantially increased.

The objective of this new Monitoring Programme was to develop a warning not only associated with areas subject to aquaculture activities, but also within confined areas with a high_risk of occurrence of HABs. We think that HABs in confined areas are more dense and occur before widespread blooms affecting non-confined waters. Thus, the Monitoring Programme of confined waters could be used as an early warning detection system for these algal blooms.

The aim of this work was to present the results of the Harmful Phytoplankton Monitoring Programme. Here, we report the autoecology and spatio-temporal distribution of potentially harmful algal blooms that occurred in confined coastal areas of Catalonia from 1995 to 1999. A review of HABs reported in the Mediterranean Sea is presented in relation to the blooms detected by the Monitoring Programme running in the area. The high number of HABs

detected during the study confirms the necessity of sampling confined waters. In this study, the terms HAB or bloom refer to an increase in the base cell concentration of a given species. Therefore, a species does not have to achieve high biomass or high population densities to be in a bloom state, nor does it need to be intrinsically capable of attaining high abundance.

Method

The study area, Catalonia (NE Spain, latitude 40.5°–42.5°N; longitude 0.2°–3.2°E), is situated in the NW Mediterranean Sea. The main rivers in the area are the Ter (6–20 m³ s⁻¹) in the north, the Llobregat (14–30 m³ s⁻¹) and the Besos (2.6–7.2 m³ s⁻¹) on the central coast, and the Ebre river (130–630 m³ s⁻¹) in the south. The Catalan coast extends as far as 400 km and is highly populated in some areas, basically in the Barcelona area (central coast) where the human density reaches 15 000 inhabitants km⁻². The recreational use of this coast has led to a request for calm waters (breakwaters, semi-closed beaches) and to an increase in recreational harbours (40 harbours in 400 km of coast which, on average, represents a harbour every 10 km of coastline).

The new Monitoring of Harmful Phytoplankton Programme based on the sampling of confined areas has been carried out since July 1995. The spatio-temporal distribution of the main harmful or noxious dinoflagellates obtained by the monitoring programme in Catalonia from July 1995 to December 1999 is presented. The sampling stations (Figure 1) are located mainly in semi-enclosed waters, such as harbours and embayments (16 stations); four stations are situated on beaches (stations 8, 11, 14 and 15). Station 3 is situated in a wetland area. Sampling is conducted weekly from May to October and bi-monthly from November to April, except for stations 19 and 20 which are sampled weekly all year. Stations 11 and 14 were sampled until April 1998. Stations 6 and 20 were sampled from March 1998 and January 1997, respectively. Bucket samples are taken at the surface during daylight hours. The harbours are sampled from the pier in the most confined area (defined as the area where water discoloration and suspended solids have usually been observed). The non-confined stations were sampled at surface from the coast (near-shore waters) when the water column was 1 m deep. Associated temperature and salinity parameters were measured with a mercury thermometer and a microprocessor conductivity meter WTW Model LF197.

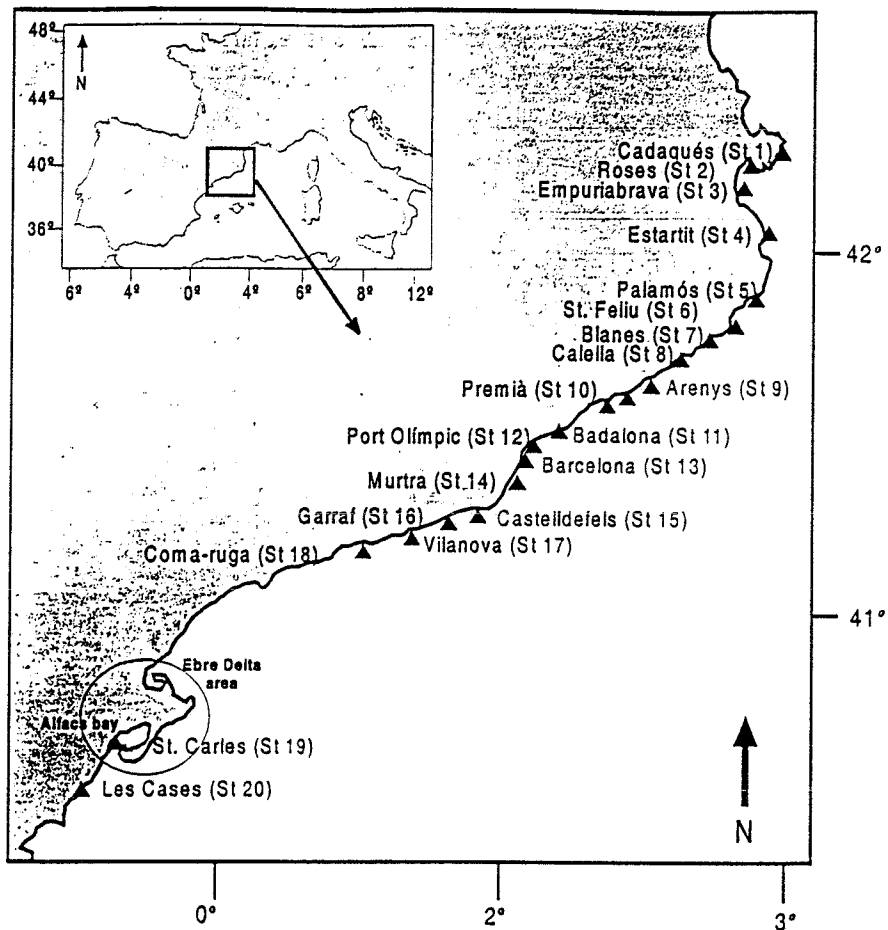


Fig. 1. Study area showing station locations and station numbers along the Catalan coast.

Samples (150 ml) of phytoplankton were preserved with formaldehyde (1% final concentration) or Lugol's iodine solution. A 50 ml aliquot was settled in a counting chamber for 1 day. For phytoplankton enumeration, the appropriate area of the chamber was scanned at 63–400x magnification using a Leica-Leitz DM-II inverted microscope (Thronsdén 1995), depending on the cell density of each species. Usually, at least three transects were scanned at 100x, one transect at 400x and the complete chamber at 63x. Thus, the minimum concentration that can be detected by this method is 20 cells·L⁻¹. However, our hypothesis is that harbours act as accumulation areas. Therefore, cell density inside harbours should be higher than in non-confined areas. We propose that this sampling strategy can act as an early warning system of widespread blooms. The phytoplankton nomenclature is used according to Steidinger and Tangen (Steidinger and Tangen 1997).

Alexandrium cells were concentrated by centrifugation, or pipetted from the counting chambers, and placed on microscope slides for taxonomic purposes. One drop of sodium hypochlorite was added to separate the thecal plates, and another drop of the fluorescent dye, calcofluor white (Fritz and Triemer 1985), was added to stain the plates. The slides were examined under 1000x magnification in an inverted microscope with fluorescence illumination. Wild populations of naked dinoflagellates were identified by scanning electron microscope (SEM) microscopy (Delgado *et al.* 1999; Garcés *et al.* 1999a).

During some specific blooms (*A. minutum*, *A. catenella* and *Dinophysis sacculus*), shellfish were collected for toxicity analysis. The toxicity analysis was carried out following the standard mouse bioassay method (AOAC 1980).

Results

The average annual surface water temperature and salinity for the different stations along the Catalan coast are presented in Figure 2. The annual mean temperature showed an increasing tendency from north to south, caused by differences in latitude. However, a lower temperature was observed at stations 19 and 20, due to the influence of north winds in the Ebre river valley.

The main potentially harmful or noxious dinoflagellates recorded in the study area can be grouped into four categories: potentially Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) producers (*Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech and *A. minutum* Halim), Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) producers (*Dinophysis caudata* Saville-Kent, *D. sacculus* Stein, *Phalacroma rotundatum* (Claparède and Lachmann) Kofoid and Michener and *Prorocentrum mexicanum* Tafall), ichthyotoxic species (*Gyrodinium corsicum* Paulmier) and those that harm tourism due to water discoloration and water quality deterioration (*Alexandrium taylori* Balech and *Gyrodinium impudicum* Fraga and Bravo). The last category is somewhat ambiguous as many phytoplankton species can discolour water, but here only two species are considered: *A. taylori* for the important economic losses caused to the tourist industry due to green blooms in several confined beaches in tourist areas; and *G. impudicum* for widespread red tides along the coast during summer, and for its morphological similarity to the toxic

Gymnodinium catenatum Graham (Fraga *et al.* 1995), which produces toxic blooms in southern Spain (Bravo *et al.* 1990).

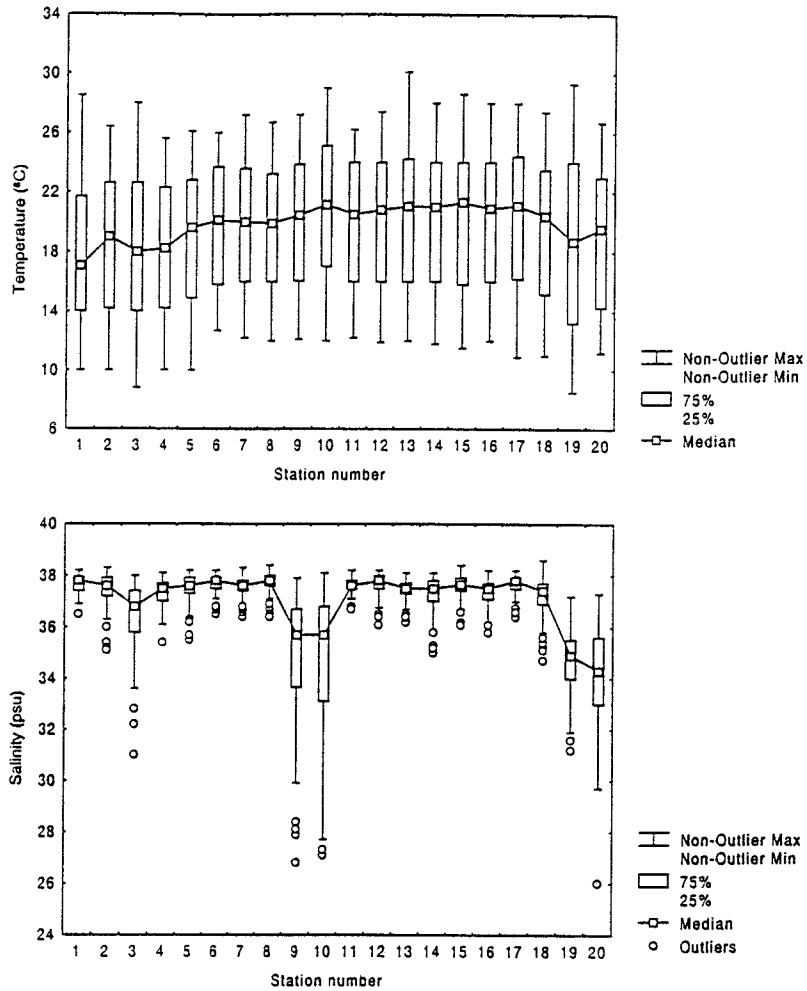


Fig. 2. Averaged surface water temperature and salinity from north to south along the Catalan coast in the studied stations.

The spatial distribution of the main species detected on the Catalan coast (Table I) shows that most species are ubiquitous along the coast. However, there are three exceptions. *Alexandrium taylori* is only detected along the northern coast (stations 4 to 6), *A. catenella* along the central coast (stations 8 to 18) and *Gyrodinium corsicum* at the southern stations (stations 19 and 20). *Gyrodinium impudicum* and *Prorocentrum mexicanum* were observed along the coast, but the former only bloomed in the southern half of the coast (stations 9 to

19) and was less abundant in the north; *P. mexicanum* showed the opposite pattern of abundance (stations 2 and 5).

Table I. Spatial distribution of the main species detected in the Catalan coast

Station	Location	<i>A. catenella</i>	<i>A. minutum</i>	<i>A. taylori</i>	<i>D. caudata</i>	<i>D. sacculus</i>	<i>G. corsicum</i>	<i>G. impudicum</i>	<i>P. lima</i>	<i>P. mexicanum</i>	<i>Ph. rotundatum</i>
1	Cadaqués	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
2	Roses	-	10 ⁴	-	+	+	-	10 ⁵	+	10 ⁴	+
3	Empuriabrava	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
4	Estartit	-	10 ⁵	10 ⁴	+	10 ⁴	-	+	+	+	+
5	Palamós	-	+	+	+	+	-	+	+	10 ⁴	+
6	St Feliu	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
7	Blanes	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
8	Calella	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
9	Arenys	+	>10 ⁶	-	+	10 ⁴	-	10 ⁴	+	+	-
10	Premià	+	10 ⁴	-	+	10 ⁴	-	10 ⁵	+	+	+
11	Badalona	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
12	Olimpic	+	10 ⁵	-	+	+	-	>10 ⁶	+	+	+
13	Barcelona	>10 ⁶	+	-	+	10 ⁴	-	>10 ⁶	+	-	+
14	Murtra	+	+	-	+	+	-	10 ⁵	-	+	+
15	Castelldefels	10 ⁴	+	-	+	+	-	10 ⁵	-	+	+
16	Garraf	+	+	-	+	+	-	10 ⁴	-	+	+
17	Vilanova	10 ⁴	10 ⁴	-	+	+	-	10 ⁴	+	+	+
18	Coma-ruga	10 ⁴	+	-	+	+	-	+	+	+	+
19	St. Carles	-	10 ⁴	-	+	+	>10 ⁶	10 ⁵	-	+	+
20	Les Cases	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+

The highest cell concentration is shown in order of magnitude. Cells detected in order of magnitude <10³ cells·L⁻¹ are represented by presence (+) and cell densities below detection level by (-).

The temporal distribution of the different species showed some seasonal trends (Figure 3). *Alexandrium minutum* was recorded all year, blooming at different times. At station 9, spring blooms occurred almost all of the sampled years (maximum concentration >10⁶ cells·L⁻¹, with brown-red discoloration being observed). Sometimes, cell densities above 10⁴ cells·L⁻¹ were detected in winter (January–February, 1998) and summer (June–July, 1999) at the same station. Winter blooms were sometimes observed at stations 12 and 17, and summer blooms were also detected at stations 4 and 12.

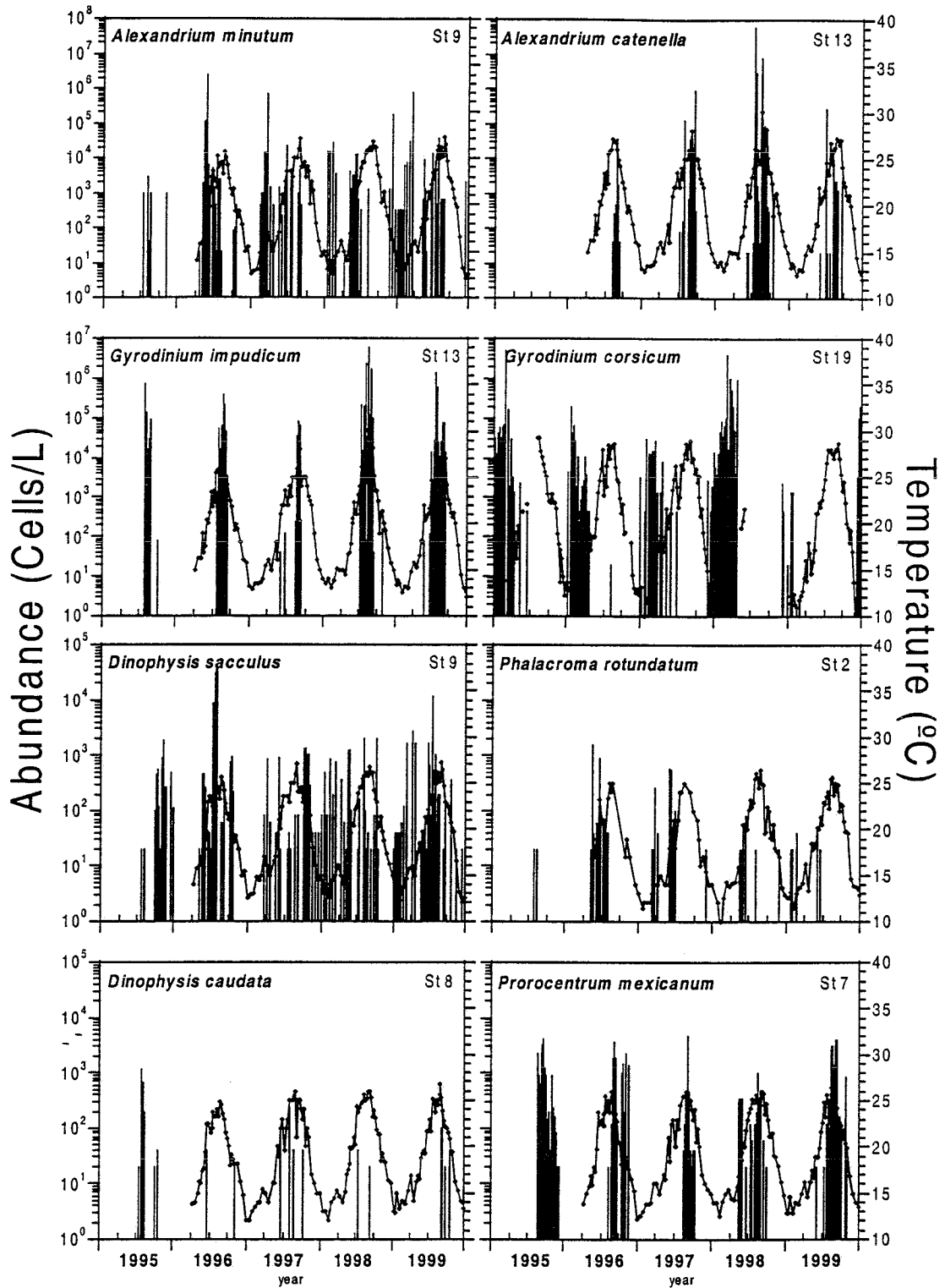


Fig. 3. Temporal distribution of the main potentially harmful dinoflagellates (*Alexandrium minutum*, *A. catenella*, *Gyrodinium impudicum*, *G. corsicum*, *Dinophysis sacculus*, *Phalacroma rotundatum* (= *Dinophysis rotundata*), *D. caudata* and *Proocentrum mexicanum*) during 1995–99 at selected stations.

Alexandrium catenella and *Gyrodinium impudicum* are summer species which were detected from the end of May to September–October, reaching concentrations of up to several million cells·L⁻¹ during July–August (brown–red discoloration). These blooms sometimes coincided with high cell concentrations in non-confined coastal waters which, in the case of *G. impudicum*, would at times also colour the non-confined waters.

Alexandrium taylori appeared during summer on beaches along the north coast (Costa Brava), blooming and causing green discoloration in some areas (Garcés *et al.* 1999b). It was also present at stations 4, 5 and 6 at densities below 5 x 10⁴ cells·L⁻¹. At those stations, water discoloration was never observed.

In contrast, *G. corsicum* bloomed every winter (December–April) at station 19, being usually more dense in the nearest Alfacs bay (Delgado *et al.* 1998, 1999). When cell densities achieved 10⁶ cells·L⁻¹ in Alfacs bay, the blooms were accompanied by fish (*Sparus aurata*) mortality in aquaculture ponds, and death of raft mussel (*Mytilus galloprovincialis*) cultures and general wild fauna in the bay. Small densities of *G. corsicum* were occasionally observed at station 20 (south of Alfacs bay). The species has never been observed in any other station in Catalonia.

Dinophysis sacculus (maximum 35 000 cells·L⁻¹, station 9) was recorded year round, reaching the highest densities during the summer months. The recording of *Phalacroma rotundatum* basically coincided with the summer increase in temperature. The maximum concentration recorded was 2730 cells·L⁻¹. *Dinophysis caudata* was usually present at low densities (maximum 2680 cells·L⁻¹, station 12) and was recorded in summer. Finally, *Prorocentrum mexicanum*, which is considered a benthic species, usually bloomed in the plankton from midsummer until the temperature dropped in autumn (maximum 21 840 cells·L⁻¹, station 5). When the benthos (sediment or macroalgae) was checked, *P. mexicanum* was always very scarce.

The Spearman correlation coefficients of the main species with temperature and salinity are shown in Table II. Although some results were achieved, all the correlations were low. *Alexandrium catenella*, *A. taylori*, *D. caudata*, *D. sacculus*, *G. impudicum* and *P. mexicanum* abundances were positively correlated with temperature. In contrast, *G. corsicum* was

negatively correlated. *Alexandrium minutum*, *D. sacculus* and *G. corsicum* abundances showed negative correlations with salinity, while *P. mexicanum* was positively correlated.

Table II. Spearman Rank Order Correlations of the main species with temperature and salinity

Species	Temperature			Salinity		
	n	R	p-level	n	R	p-level
<i>A. catenella</i>	1478	0.286	0.0000	1410	0.033	0.2187
<i>A. minutum</i>	1481	0.054	0.0372	1413	-0.125	0.0000
<i>A. taylori</i>	1481	0.117	0.0000	1413	0.083	0.0019
<i>D. caudata</i>	1479	0.232	0.0000	1411	0.131	0.0000
<i>D. sacculus</i>	1468	0.198	0.0000	1411	0.076	0.0043
<i>G. corsicum</i>	1625	-0.209	0.0000	1400	-0.141	0.0000
<i>G. impudicum</i>	1479	0.441	0.0000	1509	-0.254	0.0000
<i>P. lima</i>	1482	0.042	0.1050	1414	-0.001	0.9637
<i>P. mexicanum</i>	1479	0.197	0.0000	1411	0.014	0.6110
<i>Ph. rotundatum</i>	1480	-0.020	0.4493	1412	-0.017	0.5180

Given that *A. minutum*, *A. catenella*, *G. impudicum* and *D. sacculus* were the most widespread and abundant species (Table I), we looked closely at their dynamics. The spatio-temporal distribution of these species in four annual cycles is presented in Figure 4. Since stations 18 and 19 were too distant to present a good spatial resolution, the southernmost stations (19 and 20) are excluded from the figure. *Alexandrium minutum* and *D. sacculus* were cosmopolitan species, showing a wide spatio-temporal distribution. They were scattered along the coast and were present throughout the year. In contrast, *A. catenella* and *G. impudicum* showed strictly seasonal patterns, being present only during summer and usually blooming in adjacent locations and along the central part of the coast. The major difference between the years was observed for *A. catenella*, which appeared for the first time in summer 1996 and expanded along the central coast in the following years. The different spatio-temporal distribution between these species (*A. minutum*–*D. sacculus* and *A. catenella*–*G. impudicum*) is a consequence of the size or dimension of their blooms (microscale versus mesoscale). *Alexandrium minutum* and *D. sacculus* bloomed only in confined areas. During these events, cell densities in non-confined waters were below the detection limit ($20 \text{ cells} \cdot \text{L}^{-1}$), and it appears that there was no connection between these microscale blooms in time and space. *Alexandrium catenella* and *G. impudicum* bloomed during summer in confined and non-confined near-shore waters (mesoscale blooms) along the central coast. The species were first observed in confined rather than non-confined areas (Figure 5).

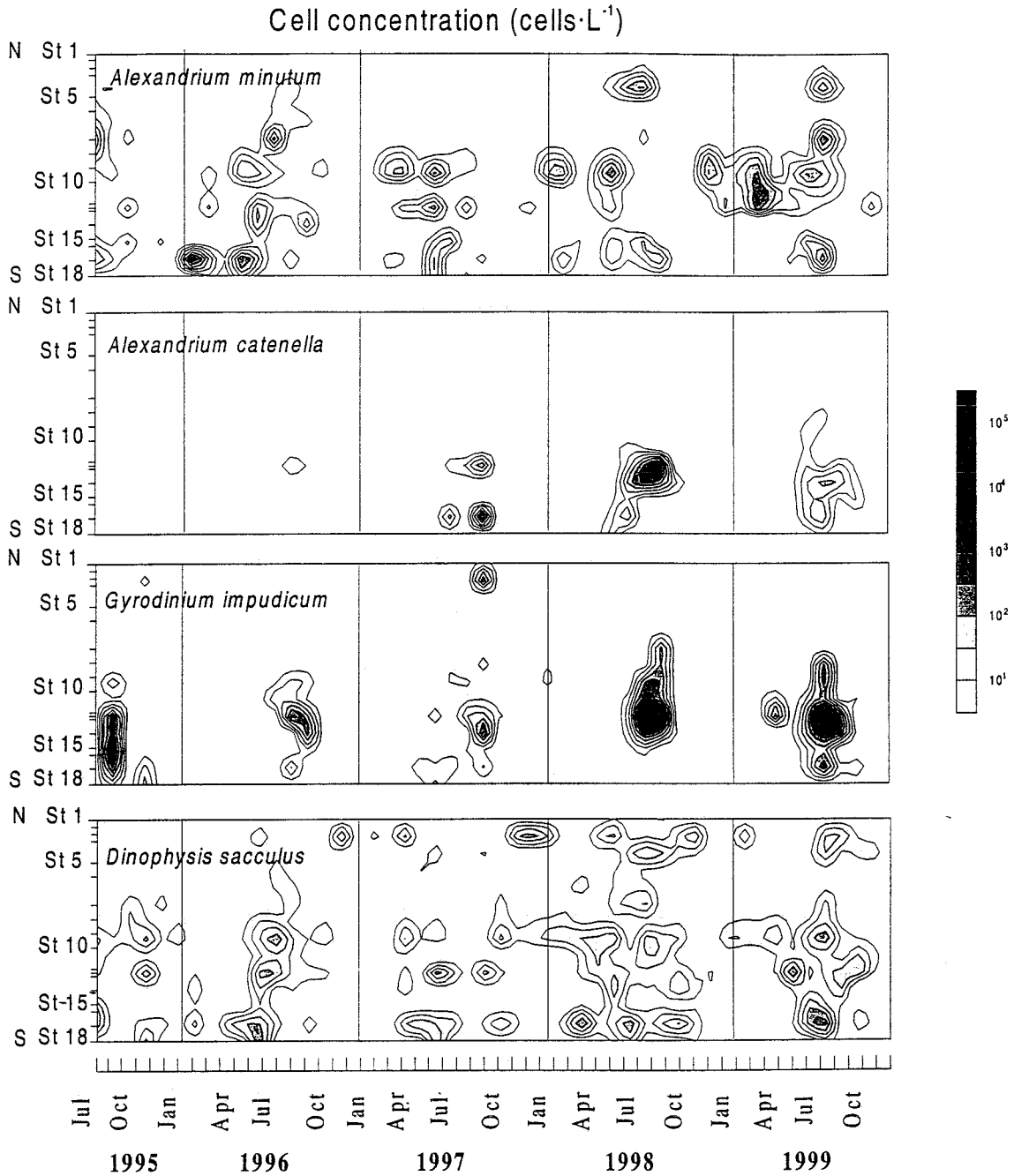


Fig. 4. Spatio-temporal contour plots of the main widespread species (*Alexandrium minutum*, *A. catenella*, *Gyrodinium impudicum* and *Dinophysis sacculus*). Interpolation was calculated by kriging and then low smoothed (Surfer v. 6.0, Golden Software).

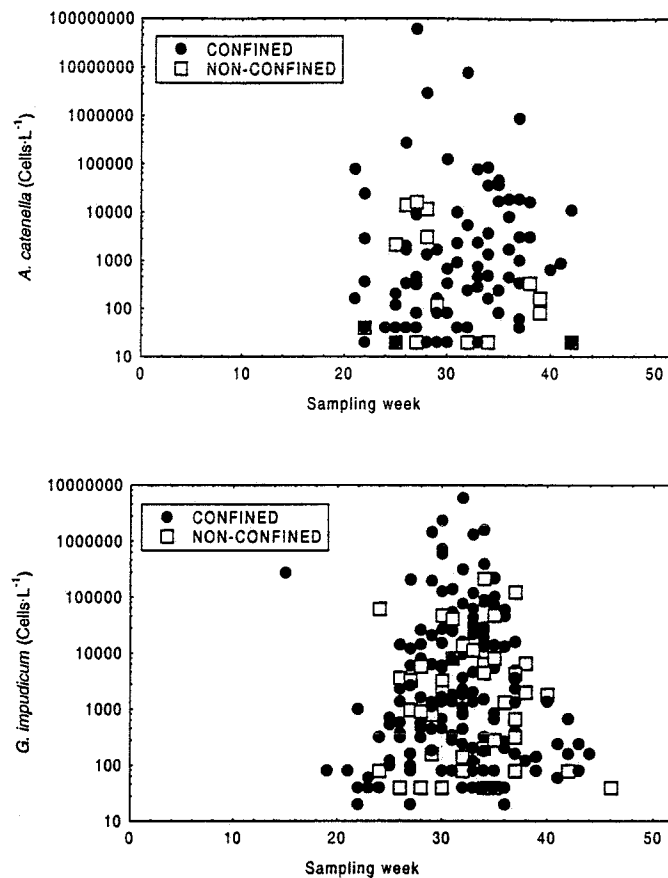


Fig. 5. Scatter plot of *Alexandrium catenella* and *Gyrodinium impudicum* densities and time (week number during the year) in confined (stations 10, 12, 13, 16, 17, 18) and non-confined near-shore waters (stations 11, 14, 15) along the central coast (1995–99 period). Note that the first detection in a given summer is always observed earlier in the confined areas than in non-confined waters.

The benthic species *Coolia* sp., *Ostreopsis* sp. and *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge were also sporadically scattered in the plankton, usually after storms.

The potential PSP and DSP toxicity of some specific blooms (*A. minutum*, *A. catenella* and *D. sacculus*) was tested (mouse bioassay) and showed positive results. For the other species, the toxicity in Catalanian waters has not yet been tested.

Apart from the species listed above, the potential PSP producer *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech was occasionally observed at station 12. The potentially ichthyotoxic *Gymnodinium pulchellum* Larsen, which had been identified in 1995 in Alfacs bay, station 19, (Delgado *et al.* 1999), was sporadically observed. In our study area, fish mortality associated with this species has never been recorded. *Alexandrium pseudogonyaulax* (Biecheler) Horiguchi has been detected in the Ebre Delta area at low concentrations (Delgado *et al.* 1999). Other potentially harmful species were detected only at low concentrations. This was the case of the dinoflagellates *Dinophysis acuta* Ehrenberg, *D. fortii* Pavillard, *D. hastata* Stein, *D. cf. ovum*, *D. tripos* Gourret, *Gonyaulax grindleyi* Reinecke (= *Protoceratium reticulatum* (Claparède and Lachmann) Starmach), *Lingulodinium polyedrum* (Stein) Dodge (= *Gonyaulax polyedra* Stein), *Pratjetella medusoides* (Hertwig) Loeblich Jr. and Loeblich III (= *Leptodiscus medusoides* Hertwig) and *Noctiluca scintillans* (Macartney) Kofoid and Swezy. *Pratjetella medusoides* has been considered in this study as a potentially harmful species because in summer 1995 it was associated with dense mucilage in relatively deep (30 m) open waters; this caused the breakage of fishermen's nets.

It is important to note that all year round potentially harmful organisms were recorded in one or more stations of the area.

Discussion

The hypothesis when designing a Monitoring Programme based on the sampling of confined waters is that these areas offer the right conditions for dinoflagellate blooms. These conditions are low turbulence, high water residence times (e.g. up to 20 days due to the mild effects of tides in the area) and low advection in comparison with non-confined waters. Low turbulence is known to favour dinoflagellate blooms (Margalef 1978; Margalef *et al.* 1979). Moreover, the behaviour and life cycle of dinoflagellates help them to bloom in those areas (Smayda 1997b; Garcés *et al.* 2000b). Toxicity is a factor that reduces grazing in harmful algal blooms (Fiedler 1982; Bagøien *et al.* 1996; Smayda 1997b; Teegarden 1999). Finally, harbours are ideal environments where cysts can settle and persist in nearby seedbeds, acting as cyst reservoirs until environmental conditions induce their germination (Anderson *et al.* 1987). As confined waters are appropriate areas for dinoflagellate blooms, the Monitoring Programme of confined waters could be used as an early warning system for detection of algal blooms.

These theoretical assumptions were validated by the results, in the sense that the monitoring procedure has been adequate for the detection of dinoflagellates (Tables IIIa–d). Not only was there a high number of potentially harmful events detected, but also the events were detected from the initial phase (some proliferate while others do not). In Tables IIIa–d, we did not seek to gather all the references available in the literature, but rather tried to offer a general idea of the major events reported. A review of the distribution of toxic dinoflagellates and related toxic events in the Mediterranean is provided in Honsell *et al.* (1995).

In general, the new Monitoring Programme proposed that sampling confined waters at a high spatio-temporal frequency was adequate to follow the bloom dynamics of some species. Therefore, we now know the temporal and geographical distribution of the main species, which have been sporadically detected in the past, by sampling non-confined near-shore waters.

The mainly harmful dinoflagellates observed in the study area were of the genera *Alexandrium* (Table IIIa) and *Dinophysis* (Table IIIb). In the Mediterranean Sea, *A. minutum* has been well documented, mainly in confined areas and related to PSP events (see Table IIIa). Toxic blooms of this species have been reported in the study area since 1989 (Delgado *et al.* 1999). In 1998, the first report of toxicity in Mediterranean waters due to *A. tamarense* was observed in the Thau Lagoon (France) (Abadie *et al.* 1999). It is remarkable that *A. catenella*, which has hardly ever been detected in the Mediterranean Sea (Margalef and Estrada, 1987; Gomis *et al.* 1996), was detected along the near-shore Catalan coast for the first time during this study. Since the first detection of an *A. catenella* bloom event in Barcelona harbour in 1996, there has been growing evidence of its geographical diffusion on the Catalan Coast. A more detailed study of the expansion of *A. catenella* on the Catalan Coast has recently been published (Vila *et al.* 2001c, veigeu Capítol 2). The species has not only been detected in confined waters, where the number of monitored stations where the species has been detected has increased year after year, but also in open near-shore waters, where widespread blooms affected 100 km of linear coast in the summers of 1998 and 1999 (Vila *et al.* 2001b, veigeu Capítol 3). The widespread blooms were recorded because surveillance was increased when the species was detected at the routinely-monitored stations.

Most of the algal blooms recorded have recurred annually (Figure 3). The recurrence demonstrates the diversity of life cycle strategies among dinoflagellates. Thus, for example,

Alexandrium spp. and *G. impudicum* produce cysts (Anderson and Wall 1978; Doucette *et al.* 1989; Bolch *et al.* 1991; Hallegraeff *et al.* 1998), which remain on the sediment. Temperature plays a crucial role in the bloom dynamics of the cyst-forming dinoflagellates. They will germinate when the environmental conditions are adequate [e.g. *A. catenella* is present in the plankton in Catalonia when water temperature is higher than 20°C (Vila *et al.* 2001c, veigeu Capítol 2)]. Both *A. catenella* and *G. impudicum* showed the strongest correlation with temperature. In contrast, the cyst-forming dinoflagellate, *A. minutum*, was not correlated with temperature but with salinity. Life cycle and overwintering strategies of the *Dinophysis* spp. are not clear, and it is of critical importance to determine whether cells are too scarce to be detected by usual sampling protocols, or whether they are present in the form of dormant benthic cysts (Maestrini 1996). It is noteworthy that in this study, *D. sacculus* cells were observed in the plankton during winter (sometimes up to 800–2000 cells·L⁻¹), although concentrations above 10⁴ cells·L⁻¹ have only been reached in summer.

Gyrodinium corsicum was identified in Catalonia after a bloom in Alfacs bay in winter 1994–95 (Delgado *et al.* 1995). The duration and density of *G. corsicum* blooms at station 19 were higher during winter 1995–98 than during 1998–99. Thus, the bloom intensity seems to have decreased. Small densities were observed occasionally at station 20 (south of Alfacs bay).

Until now, *Gymnodinium catenatum*, which has been observed in other areas in the Mediterranean Sea (Bravo *et al.* 1990; Giacobbe *et al.* 1995), had not been detected in Catalonia. In a study on dinoflagellate cyst production in the Gulf of Naples, cysts of both *A. andersonii* Balech and *G. catenatum*-like were recorded (Montresor *et al.* 1998). *Alexandrium andersonii*, which had previously been reported as non-toxic (Anderson *et al.* 1990; Balech, 1995), revealed the presence of PSP toxins in dinoflagellates germinated from spherical, smooth-walled cysts (Ciminiello *et al.* 1999). This species had not previously been detected in either Catalonia or the Mediterranean until now, so specific taxonomic studies have to be carried out to be able to differentiate it from the very close, morphologically similar *A. minutum*.

The harbour walls are often covered with macroalgae. Dinoflagellate epiphytes on macroalgae, some of them potentially harmful species, are occasionally resuspended during periods of high hydrodynamic regimes. In these situations, epiphytic or benthic organisms, such as *Coolia* sp., *Ostreopsis* sp. and *Prorocentrum lima*, are detected in the planktonic

samples. It is known that they form benthic assemblages in tropical waters with *Gambierdiscus toxicus* Adachi and Fukuyo which is assumed to be the causative organism in most outbreaks of Ciguatera Fish Poisoning (CFP) (Ballantine *et al.* 1988; Van Dolah 2000). Although it is not yet clear, the epiphytic organisms detected in this study area are suspected of playing a subsidiary role in CFP in tropical waters (Wright and Cembella 1996). However, CFP has never been reported in the Mediterranean Sea.

Blooms of potentially toxic diatoms of the genus *Pseudo-nitzschia*, and low densities of silicoflagellates (*Dictyocha fibula* Ehrenberg and *D. speculum* Ehrenberg) and Prymnesophyceae (*Phaeocystis* sp.), were also recorded during the study period.

Table III. Occurrences of potentially harmful dinoflagellates in the Mediterranean Sea. We show the species that have been correlated with PSP, DSP intoxications, fish or shellfish mortality and water discoloration in the Mediterranean Sea. (a) Paralytic Shellfish Poisoning producers, (b) Diarrheic Shellfish Poisoning producers, (c) Fish or shellfish mortality producers, (d) Occurrences of species that produce a noxious effect on tourism due to water discoloration. The events were ranked by species and publication year. In bold font are HABs detected in confined waters in the study area (Catalonia). HAEDAT: HAEDAT database (COI-IEO)

Table IIIa.

SPECIES	Max. conc. (cells·l ⁻¹)	Detection of toxicity	Location, year	Reference
<i>Alexandrium catenella</i>	rare		Front between Catalan Coast and Balearic Islands (Spain)	Margalef and Estrada 1987
	5x10 ⁴		Valencia Harbour (Spain), 1994	Gomis <i>et al.</i> 1996
	3.6x10 ⁴		Barcelona harbour (Catalonia, Spain), 1996	Vila <i>et al.</i> 2001c and this study
	2.4x10 ⁴	784 µg SXT eq/100g tissue (open coastal waters)	Widespread blooms (1998, 99)	Vila <i>et al.</i> 2001b
	60x10 ⁶	983 µg SXT eq/100g tissue (harbour waters)	Many harbours, 1997, 98, 99 (Catalonia, Spain)	This study
<i>Alexandrium minutum</i>	26x10 ⁶ (1958)	Fish mortality (1994)	Alexandria harbour (Egypt) 1958, 1994	Halim 1960; Ismael and Halim 2000
	24x10 ⁶ (1994)		Gulf of Naples (Italy), 1985-86	Montresor <i>et al.</i> 1990
	28x10 ⁶	110 µg SXT eq/100g tissue shellfish toxicity, PSP	Gulf of Trieste, Adriatic Sea (Italy) 1987 Ebre delta (Spain) 1989	Honsell 1993 Delgado <i>et al.</i> 1990
	Bloom with red discolouration		Alfacs bay (Ebro Delta), 1990 Izmir bay, Aegean Sea (Turkey) 1990-91	Delgado, HAEDAT Koray <i>et al.</i> 1992
	180x10 ⁶	80 µg SXT eq/100g tissue	Toulon Bay (France) 1990	Belin 1993
	9x10 ⁴		Ganzirri lagoon, Sicily (Italy) 1990-92	Giacobbe and Maimone 1994
	small concentration	shellfish toxicity, PSP	Salses-Leucate Lake (France) 1993	Belin, HAEDAT
	7.5x10 ⁴	Traces (HPLC)	Kastela Bay, Adriatic Sea (Croatia) 1993, 1995	Marasovic <i>et al.</i> 1995
	10-60x10 ³		Ganzirri lagoon, Sicily (Italy) 1992	Giacobbe <i>et al.</i> 1996
	7.3x10 ⁴	192 µg SXT eq/100g tissue	Emilia Romagna coast, Adriatic Sea (Italy) 1994	Honsell <i>et al.</i> 1996
	45x10 ⁶	1170 µg SXT eq/100g tissue	Balearic Islands (Spain) 1995	Forteza <i>et al.</i> 1998
	6.9x10 ⁵	>80 µg SXT eq/100g tissue	Vilanova Harbour (Catalonia, Spain), 1996	This study
10 ⁶ -10 ⁷	>80 µg SXT eq/100g tissue	Arenys Harbour (Catalonia, Spain), 1996-1999	This study	
10 ⁴ -10 ⁵		Olimpic, Premià, Estarrit, Roses harbours (Catalonia, Spain) 1996-1999	This study	

			Can Picafort, Santa Margarita, Mallorca (Spain), 1998	Moya, IIAEDAT
<i>Alexandrium tamarense</i>	rare	"	Catalan Coast (Spain)	Margalef 1969
	11×10^6	Not detected	Emilia Romagna coast, Adriatic Sea (Italy) 1982	Boni <i>et al.</i> 1983
	bloom	Not detected	Emilia Romagna coast, Adriatic Sea (Italy) 1985	Boni <i>et al.</i> 1986 (<i>A. cf. fundyense</i>)
	1×10^5		Gulf of Naples (Italy), 1985-86	Montresor <i>et al.</i> 1990
	9×10^4	shellfish toxicity, PSP syndroms	Olimpic, Premià harbours (Catalonia, Spain) 1996	This study
			Thau Lagoon (France) 1998	HAEDAT
			Coastal lagoon, Po River delta (Italy)	Sorokin <i>et al.</i> 1999
<i>Gymnodinium catenatum</i>	rare		Alboran Sea (Spain) 1982	Delgado 1990
	3×10^3	shellfish toxicity, PSP	Fuengirola; Málaga (Spain), 1987	Martinez, HAEDAT
	$1,6 \times 10^6$	200 ug SXT eq/100g tissue	Coast between Málaga and Algeciras Bay (Spain) 1989	Bravo <i>et al.</i> 1990
	$5,4 \times 10^3$		Mediterranean coast, Valencia (Spain) 1990	Bravo, HAEDAT
	$1,2 \times 10^3$	shellfish toxicity, PSP	Malta Channel, Sicily (Italy) 1993	Giacobbe <i>et al.</i> 1995
			Alboran Sea (Spain) 1997-98	Mamán <i>et al.</i> 2000

Table IIIb.

SPECIES	Max. conc. (cells·l ⁻¹)	Detection of toxicity	Location, year	Reference
<i>Dinophysis acuminata</i>			Lac El-Mellah (Algery) 1991	Samson-Kechacha and Touahria 1992
<i>Dinophysis cf. acuminata</i>	9.8x10 ³	shellfish toxicity, DSP	Fos Gulf, Bouches du Rhone (France) 1989	Belin, HAEDAT
<i>Dinophysis acuta</i>	1.3x10 ⁴	shellfish toxicity, DSP	Ebro Delta (Catalonia, Spain), 1990	Delgado, HAEDAT
<i>Dinophysis caudata</i>	<10 ³		Gulf of Trieste (Adriatic Sea, Italy) 1991-92	Sidari <i>et al.</i> 1995
<i>Dinophysis caudata</i>	2.6x10 ³		Blooms at Costa Brava (Catalonia, Spain) 1995-99	This study
<i>Dinophysis fortii</i>	120 (mean values for water column)	1.35 µg OA+DTX-1*/g	Gulf of Trieste (Adriatic Sea, Italy) 1990-91	Della-Loggia <i>et al.</i> 1993
<i>Dinophysis fortii</i>	<10 ³		Gulf of Trieste (Adriatic Sea, Italy) 1991-92	Sidari <i>et al.</i> 1995
<i>Dinophysis recurva</i>	9.8x10 ³	shellfish toxicity, DSP	Fos Gulf, Bouches du Rhone (France) 1989	Belin, HAEDAT
<i>Dinophysis sacculus</i>	1.4x10 ³	shellfish toxicity, DSP	Languedoc Roussillon, Bouches du Rhone (France), 1987	Lassus, HAEDAT
<i>Dinophysis sacculus</i>	1.3x10 ⁴	shellfish toxicity, DSP	Ebro Delta (Catalonia, Spain), 1990	Delgado, HAEDAT
<i>Dinophysis sacculus</i>	<10 ³		Gulf of Trieste (Adriatic Sea, Italy) 1991-92	Sidari <i>et al.</i> 1995
<i>Dinophysis sacculus</i>			shallow inland waters (a brackish lagoon of the Tyrrhenian Sea, Italy)1993	Giacobbe 1995
<i>Dinophysis sacculus</i>	1.9x10 ⁴	shellfish toxicity, DSP	Alfacs Bay (Ebro Delta, Catalonia, Spain), 1998, 99	Delgado, HAEDAT
<i>Dinophysis sacculus</i>	3.5x10 ⁴		All monitored stations (Catalonia, Spain), 1995-99	This study
<i>Dinophysis</i> spp.	2.2- 6.8x10 ³	shellfish toxicity, DSP	Several stations Western Medit.(France) 1989, 90, 91	Belin, HAEDAT
<i>Dinophysis</i> spp.	5.2-7.9x10 ³	shellfish toxicity, DSP	Diana and Urbino Ponds, Corsica (France) 1992, 93	Belin, HAEDAT
<i>Dinophysis</i> spp.	3.4x10 ³	shellfish toxicity, DSP	Emilia-Romagna coast (NW Adriatic Sea, Italy) 1990	Boni <i>et al.</i> 1993
<i>Dinophysis</i> spp.			Coastal waters (Liban) 1983-1993	Lakkis and Zeidane 1995
<i>Dinophysis</i> spp.	4.4x10 ³		Gulf of Trieste (Adriatic Sea, Italy) 1993	Mozetic and Obal 1995
<i>Dinophysis</i> spp.	4.2x10 ³		Coastal waters, NW Adriatic sea (Italy) 1990-96	Aubry <i>et al.</i> 2000
<i>Ostreopsis ovata</i>	8x10 ³		Thyrrhenian Sea (Italy) 1994	Tognetto <i>et al.</i> 1995
<i>Ostreopsis</i> sp.	7.8x10 ⁴		Presences: all monitored stations; Blooms: Garraf and Blanes harbour (Catalonia, Spain), 1995-99	This study
<i>Phalacroma rotundatum</i>	1.4x10 ³	Negative (Microtox test)	Southern Adriatic Sea (Italy) 1995-97	Caroppo <i>et al.</i> 1999
<i>Phalacroma rotundatum</i>	2.7x10 ³		Blooms at Roses harbour (Catalonia, Spain), 1995-99	This study
<i>Prorocentrum mexicanum</i>	2.2x10 ⁴		Presences: all monitored stations; Blooms: Costa Brava (Catalonia, Spain), 1995-99	This study

*OA: Okadaic acid; DTX-1: dinophysistoxin-1

Table IIIc.

SPECIES	Max. conc. (cells·l ⁻¹)	Detection of toxicity	Location, year	Reference
<i>Gyrodinium corsicum</i>	125x10 ⁶ >10 ⁶	Fish mortality Fish and shellfish mortality	Etang Diana, Corsica (France) 1994 Alfacs Bay, Ebro Delta (Catalonia, Spain), 1994-99	Paulmier <i>et al.</i> 1995 Garcés <i>et al.</i> 1999a; Delgado, HAEDAT
<i>Gymnodinium pulchellum</i>	3.8x10 ³ 1x10 ⁴		Les Cases harbour (Catalonia, Spain), 1997-99 Alfacs and Fangar bays, St. Carles harbour, 1995; Vilanova and Barcelona harbour (Catalonia, Spain), 1999	This study Delgado <i>et al.</i> 1999; This study
<i>Gymnodinium breve</i> *		Fish mortality	Greece, 1977-83, 1987	Pagou and Igniatides, 1990
<i>Gymnodinium</i> sp.		Shellfish mortality	Lapalme Pond, Languedoc-Roussillon (France) 1989	Belin, HAEDAT
<i>Gymnodinium</i> sp. (very close to <i>G. cf. nagasakiense</i>)	2.7x10 ⁶	Fish mortality	Diana Pond (site 114) in Corsica (France) 1993	Belin, HAEDAT
<i>Prorocentrum minimum</i>	3.5x10 ⁴ -6.9x10 ⁶ small concentration	Fish mortality Shellfish toxicity	Berre lagoon, Bouches du Rhone (France) 1987 Salses-Leucate Lake (site 088), Western Mediterranean Sea (France) 1993	Lassus, HAEDAT Belin, HAEDAT

*not confirmed by Electron Microscopy

Table III.

SPECIES	Max. conc. (cells·l ⁻¹)	Detection of toxicity	Location, year	Reference
<i>Alexandrium taylori</i>	2x10 ⁶	Not detected	La Fosca (Catalonia, Spain), 1994-99	Garcés 1998; Garcés <i>et al.</i> 1998a; Garcés <i>et al.</i> 1999b; Garcés, HAEDAT
	1x10 ⁶		Peguera, Tarida (Balearic Islands, Spain) 1997, 99	Garcés 1998
	6x10 ⁶ (cysts)	Negative (HPLC), Positive (Microtox)	Peguera Beach (Balearic Islands, Spain) 1996, 97, 98 Marina di Melilli (Sicily, Italy)	Forteza, Moya, HAEDAT Giacobbe and Yang 1999
	5x10 ⁴		St. Feliu, Palamós, Estartit harbour (Catalonia, Spain) 1998, 1999	This study
<i>Gyrodinium impudicum</i>	1.5x10 ⁶		Fusaro lagoon, Thyrrhenian Sea (Italy) 1988-89	Carrada <i>et al.</i> 1991 (<i>G. catenatum</i>)
	5x10 ⁶		Widespread bloom and many harbours, Coast of Catalonia (Spain), 1993	Delgado, HAEDAT; Fraga <i>et al.</i> 1995
	5.9x10 ⁶	>40,000 MU*/100g meat	Oued Laou, Tetouan (Morocco) 1993-94 In many harbours (Coma-ruga to Blanes; Catalonia, Spain), 1995-99. Coinciding with high concentrations in open coastal waters	Tagmouti <i>et al.</i> 1996 This study

*MU: mouse units

The Monitoring Programme: advantages and disadvantages

The high frequency of detection of HABs made by the Harmful Phytoplankton Monitoring Programme, based on the sampling of confined waters in Catalonia, is unquestionable. Table IIIa–d demonstrates the high frequency of harmful events caused by dinoflagellates in confined areas from our study area (in bold font), with reference to the available literature for the Mediterranean Sea. The sampling strategy described gives us the opportunity to analyse the dimension of the HABs problem and discuss possible increases of a particular species. The main fact under discussion is whether there is a real increase in the presence of blooms, or whether it is our awareness or knowledge that has increased. A bibliographic revision of toxic events will always be incomplete; it is not easy to follow the potentially harmful species in the literature in low concentrations or in blooms. Most of the bloom descriptions are in the ‘grey’ literature (reports or national journals) and in most cases, only the first detection in one specific area is described. This creates a great obstacle when trying to evaluate any expansion of a given species. It is necessary to implement long-term monitoring with adequate spatio-temporal scales.

The Monitoring Programme has some advantages and some limitations. The hypothesis tested, i.e. that harbours act as accumulation areas for dinoflagellates, allowed us to detect cells (e.g. *A. catenella*, *G. impudicum*) in confined areas before the occurrence of widespread blooms which would affect the non-confined waters. The confined blooms of *A. catenella* and *G. impudicum* can be interpreted as the amplification of widespread blooms along the coast (mesoscale events) because simultaneously, densities above 10^4 cells·L⁻¹ were detected in non-confined areas (Figure 5). Denser blooms in harbours occurred probably as a particular response of those mesoscale events to the better conditions encountered in restricted areas, together with a lack of dilution. Thus, by sampling in confined areas, we can obtain an early warning of these blooms. In future studies, it will be necessary to check the origin of widespread blooms (e.g. whether they are originated in restricted areas such as harbours, or whether they are originated outside and are just amplified inside harbours). The early warning system might not operate for all the dinoflagellate species. It worked for *A. minutum*, as blooms were never observed in non-confined waters, but it did not work for *Dinophysis* because the most common feature of the blooms of this genus is the formation of ‘dense’ patchy populations non-randomly distributed throughout the water column (Maestrini 1996). This genus is possibly insufficiently dense and too patchy to be studied on the large spatio-

temporal scales used in this work. The fact that these organisms are toxic at very low concentrations makes it difficult to monitor them correctly. The Monitoring design was not as effective for other dinoflagellates, such as *A. taylori* (Garcés *et al.* 1999b), which prefer such habitats as beaches. Other species that can be missed by the sampling strategy are those that develop in waters slightly offshore. For example, blooms of *Noctiluca scintillans*, which is considered to be an oceanic rather than a coastal species, might easily be missed. This species occasionally accumulates along the coast because of winds and currents, and only in this situation will the Monitoring Programme be able to detect the species. However, the main disadvantage of the proposed Programme is the lack of information on possible sub-superficial blooms. In the future, vertical net samples will have to be included to avoid missing these blooms.

In general, the temporal scales chosen were adequate to follow the bloom dynamics. The spatial scales were also adequate, except in the southern area, where stations 18 and 19 were too distant to provide a good spatial resolution. It is important to emphasize, in the context of the global increase of HABs, that the spatio-temporal scales chosen by this Monitoring Programme gave us the opportunity to detect the real increase in blooms of particular species such as *A. catenella*.

It is also worth emphasizing that although potentially harmful species are at bloom concentrations mainly during the warm months, our Monitoring Programme recorded them throughout the year. Although most of the species were recorded usually at low concentrations in the winter, *A. minutum* and *G. corsicum* bloomed during the coldest months. Thus, the Monitoring Programmes should not be limited to the summer months as it often happens.

We suggest the use of this sampling design as a monitoring system in other areas with similar properties (highly populated coasts, small tides and many engineered structures that decrease water energy and increase residence times), because it has the advantage of recording a lot of events and, for some species, it could anticipate non-confined widespread events. In the future, routine sampling of the stations for a longer time will allow us to describe the expansion within the species.

CAPÍTOL 2

Vila M, Garcés E, Masó M, Camp J (2001) Is the distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* expanding along the NW Mediterranean coast? Mar Ecol Prog Ser (in press)

Capítol 2

Is the distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* expanding along the NW Mediterranean coast?

Abstract

The toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* is known to bloom in cold waters, however, during the summer of 1996 a bloom was observed in the Barcelona harbour (water temperatures above 20°C). This was the first time that an *A. catenella* bloom occurred in Catalan waters. Recurrent blooms have been observed annually from 1996 to 1999 during the warm season in this harbour. Since its first detection *A. catenella* has been recorded at an increasing number of stations along the coast, suggesting a progressive areal expansion. Two toxic, widespread events of this species occurred in non-confined coastal waters along 100 km of coastline during the summers of 1998 and 1999. We argue that the newly constructed harbours, serving as confined habitats for the development and maintenance of *A. catenella*, have contributed to the expansion of the dinoflagellate on the NW Mediterranean coast.

Introduction

The global increase in toxic or harmful algal blooms (HABs) (Anderson *et al.* 1989, Smayda 1990, Hallegraeff 1993) has also included the NW Mediterranean, where numerous dinoflagellates blooms, especially involving the *Alexandrium* genus (*Alexandrium minutum*, *Alexandrium tamarense* and the non-toxic *Alexandrium taylori*) have been reported (Vila *et al.* 2001a, veigeu Capítol 1). The potent neurotoxins (paralytic shellfish poisoning, PSP) produced by some *Alexandrium* species are accumulated by filter-feeding shellfish and other grazers and passed at higher trophic levels to humans, leading to illness, incapacitation, and even death (Anderson 1997). During the last few years, *Alexandrium catenella*, a potential PSP-producer has been detected on the Catalan coast (NW Mediterranean Sea). This species had been reported in cold waters in several parts of the world, such as the west coast of North America from California to Alaska and southern and central Chile and southern Argentina. It has also been observed in western South Africa, southern Australia (including Tasmania), the Kamchatka peninsula and Japan (Taylor 1984, Taylor *et al.* 1994, Balech 1995, Steidinger and Tangen 1997). In the Mediterranean Sea, there were only a few references: *A. catenella* was listed as a rare species on a series of cruises across the Balearic basin (NW Mediterranean) (Margalef and Estrada 1987). In 1994, it was detected in the Valencia harbour (NE Spanish coast) (Gomis *et al.* 1996), and it has also been found in net samples from the Tunis lagoon (S. Fraga, personal communication). But *A. catenella* had never been observed either at routine monitoring stations along the Catalan coast from 1991 to 1995 or at the Ebro Delta bays since 1989 (Delgado *et al.* 1998, Delgado *et al.* 1999). *A. catenella* is commonly considered a cold-water organism, and so blooms in the Mediterranean Sea were not expected. But in spring 1998, the first widespread PSP toxic event caused by *A. catenella* was detected in the Mediterranean, and the phenomenon occurred again, although with less intensity, the next year (Vila *et al.* 2001b, veigeu Capítol 3).

The rapid expansion of a toxic dinoflagellate, such as *A. catenella*, in the Mediterranean may have great environmental and health care consequences, and thus, efforts directed to understand the causes of such an expansion are clearly needed. The aim of this paper is to report the rapid geographical expansion of *A. catenella* along the Catalan Coast after its first detection in 1996. Increased distribution and abundance is discussed in relation to the possible causes that might have triggered its expansion, such as the trophic characteristics of the near-

shore Catalan waters and the ability of dinoflagellates to colonize, settle, and proliferate in confined habitats created or modified by human activity.

Methods

Spatio-temporal distribution. Data presented in this paper were collected during the Harmful Phytoplankton Monitoring Programme which operated on the Catalan Coast (NW Mediterranean Sea) from July 1995 to December 1999 at 17 fixed stations. 14 of which were located in harbours, another one at Cadaqués bay, and two more at beaches (Fig. 1a).

The sampling interval was once a week from May to October, and twice monthly from November to April, except for Les Cases harbour which was sampled weekly year-round. Surveillance was increased when potentially harmful phytoplankton was detected at the monitored stations. Additional samples for phytoplankton quantification were then collected from harbours, at beaches and breakwaters in the neighbouring localities.

Salinity and temperature were measured since March 1996. Bucket phytoplankton samples (150 ml) were taken from the surface during the day at selected sites inside the harbours (the most confined areas), bays or beaches and preserved with formaldehyde (1% final concentration) or Lugol iodine solution. An aliquot was settled for 24 hours in 50 ml counting chambers and an appropriate area of the chamber was then scanned (Thronsen 1995) for phytoplankton enumeration at 100-400X magnification using a Leica-Leitz DM-IL inverted microscope. About 30 cells were measured (length and width) with an image analysis system (Scion Image V1.62) attached to a Nikon Diaphot TMD microscope.

Small samples of *A. catenella* blooms were pipetted from the chambers and placed on microscope slides for taxonomical purposes. One drop of sodium hypochlorite was added to separate the thecal plates, and another drop of the fluorescent dye calcofluor white (Fritz and Triemer 1985) was added to dye the plates. The slides were examined under 1000X magnification in the inverted microscope with fluorescent illumination.

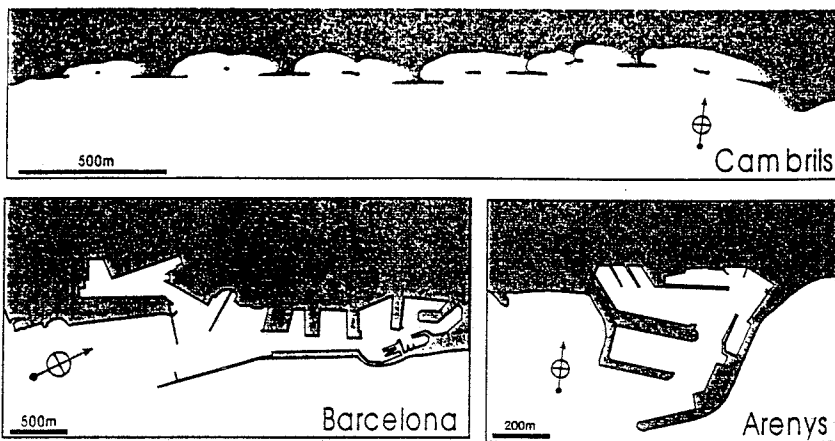
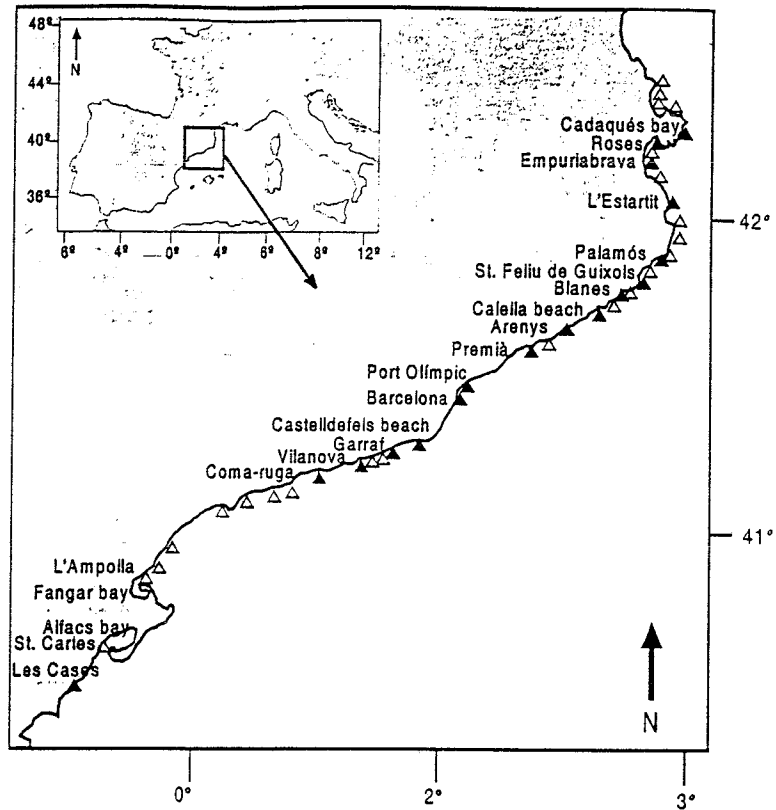


Fig. 1. a) Situation of the coast studied in Europe. Study area showing the sampled stations (black triangles) in the Potentially Harmful Phytoplankton Monitoring programme. White triangles indicate non-sampled harbour locations. b) Some examples of man-made confined waters: semi-closed beaches in Cambrils and a big (Barcelona) and a small harbour (Arenys).

Shellfish were collected for toxicity analysis when potentially toxic phytoplankton was detected during monitoring. Toxicity analysis was done following the standard mouse bioassay method (AOAC 1980). The permissible toxicity level in the EU is 80 μg saxitoxin-eq./ 100g of mussel meat.

Surface water samples for nutrient analysis were collected approximately at 1m depth and immediately frozen. Nutrients were determined automatically as described in Grasshoff *et al.* (1983). These samples come from an extensive environmental monitoring programme that includes 61 beaches and 11 harbours sampled during 2 and 3 annual cycles respectively. However the stations sampled for nutrients were not exactly the same as those sampled for phytoplankton.

Background and Study area

Catalonia (NE Spain, lat. 40.5°-42.5°N; long. 0.2°-3.2°E) is situated in the NW Mediterranean Sea. Its coast extends along 400 km and is highly populated in some areas. On the central coast the human density is between 500 and 1300 inhabitants km^{-2} and reaches to up to 15,000 inhabitants per km^{-2} in the Barcelona area. In addition, total population increases by more than 50% in some coastal regions during the tourist season. The recreational use of this coast has led to a demand for calm waters (breakwaters, semi-closed beaches) and an increase of recreational harbours (40 harbours on 400-km of coast, which, on average, represents a harbour for every 10-km of coastline). As a result 1/4 of the Catalan coastline is full of man-made structures (fig. 1b). On a topographic map (scale 1:50,000) we could measure 217 km of these man-made structures on a coastal length of 826 km. The proportion of man-made coastal structures increased from 20% in the 80s to 27% in the 90s (Institut Cartogràfic de Catalunya, personal communication).

A phytoplankton monitoring programme has been working in the area from 1989 to the present with weekly frequency at the Ebro Delta bays, the only shellfish culture site on the Catalan coast; the rest of the coast was sporadically monitored (once every 2-3 months) in non-confined waters from 1991 to 1994. However, since 1995 a new Harmful Phytoplankton Monitoring Programme has been established; the frequency and distribution of monitored stations along the coast has been substantially increased and based on a new concept:

sampling confined waters. The unquestionable success of this strategy in the detection and following up the increase of HABs is discussed in Vila *et al.* (2001a, veigeu Capítol 1). Along the Catalan coast, the circulation is dominated by an along shore north-southwest flow associated with a shelf-slope front located approximately above the shelf-break region and characterised by mean velocities on the order of 20 cm s⁻¹ (Font *et al.* 1988). The shelf region is characterised by a weak southward flow with strong spatial and temporal variability and with the presence of local and intense saline or thermal fronts (Masó and Duarte 1989, Masó and Tintoré 1991). Trophic conditions such as concentrations of inorganic nutrients and their stoichiometric relationships in the near-shore coastal Catalan waters during summer months (June-September) are summarised in Table I. We divided the area into three regions, the northern region, the central area, which is affected by *A. catenella*, and the southern area. The data indicate that the whole area is under potential silicate limitation, but this is specially so in the central area, where more than 50% of the cases are affected by potential silicate limitation. This central area is characterised by a high human density and consequently higher levels of N-NH₄ and PO₄. If we consider the criteria of probable nutrient limitation (Justic *et al.*, 1995), the percentages of the three single nutrient imitation decrease (being the probable silicate limitation the highest and similar in the three areas, about 25%).

Table I. Concentrations of major inorganic nutrients (µM) and their average atomic ratios in the near-shore Catalan surface waters in summer (June-September). The area is divided into three regions (the northern region, the area affected by *A. catenella*, and the southern area). Frequency of single nutrient limitation (% of occurrence) stoichiometric (Stoich) and probable (Prob) has been calculated as in Justic *et al.*, 1995 (criteria detailed below). Data come from an extensive environmental monitoring programme (61 beaches and 11 harbours sampled monthly during 3 and 2 annual cycles respectively).

Criteria	P limitation	N limitation	Si limitation
* stoichiometric	DIN:P >22; Si:P >22	DIN:P <10; Si:DIN >1	Si:P <10; Si:DIN<1
* probable	P<0,1 µm DIN:P >22; Si:P >22	DIN< 1 µm DIN:P <10; Si:DIN >1	Si <2 µm Si:P <10; Si:DIN<1

Expansion of *Alexandrium catenella* in the NW Mediterranean

Summer months
(June-September)

Nutrient concentrations (μM)		n	Mean	Median	Q25 - Q75
NO₃					
North		347	9,9	2,4	1 - 4,8
Catenella		353	8,4	2,3	1 - 5,4
South		150	9,9	1,7	1 - 5,7
NO₂					
North		345	0,4	0,1	0,1 - 0,2
Catenella		355	0,6	0,2	0,1 - 0,4
South		151	0,2	0,2	0,1 - 0,3
NH₄					
North		347	6,4	0,7	0,3 - 1,4
Catenella		352	18,7	1,0	0,4 - 2,8
South		151	1,6	1,0	0,4 - 2,3
PO₄					
North		347	0,8	0,3	0,2 - 0,5
Catenella		354	1,4	0,3	0,2 - 0,6
South		151	0,3	0,2	0,1 - 0,4
SiO₄					
North		347	4,6	2,7	1,3 - 4,2
Catenella		355	4,6	2,5	1,4 - 4,2
South		151	6,1	2,7	1,5 - 8,8
Average atomic ratios		DIN:P	Si:DIN	Si:P	
North		19,9	0,3	5,6	
Catenella		20,5	0,2	3,4	
South		39,8	0,5	20,9	
Frequency of single nutrient limitation		(% occurrence)			
		Stoich*	Prob*		
P limitation					
North		10,1	3,2		
Catenella		7,3	4,5		
South		27,2	17,9		
N limitation					
North		22,5	6,9		
Catenella		18,0	6,2		
South		15,2	5,3		
Si limitation					
North		41,5	24,5		
Catenella		55,2	25,9		
South		31,8	21,2		

Results

The organism

Given that *Alexandrium catenella* is commonly considered a cold-water species (Balech 1995), we document with microphotographs the organism observed in our study area, for taxonomic comparison (Fig. 2).

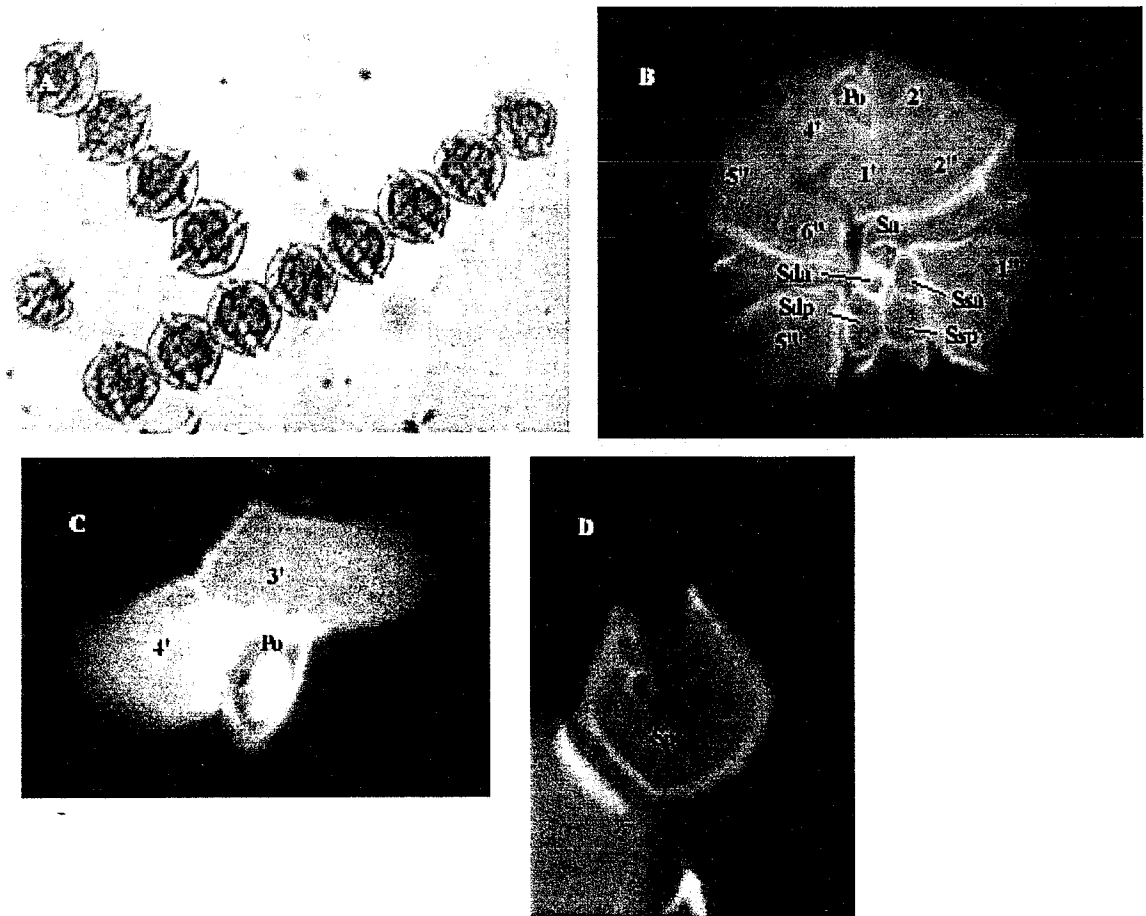


Fig. 2. *Alexandrium catenella* microphotographs of plankton samples. A. LM. Four and eight-celled chain. B. LM (fluorescence) Cell ventral view showing the plates. Calcofluor-stained. C. LM (fluorescence) Detail of a triangular apical pore plate (Po) with anterior attachment pore. D. LM (fluorescence) Detail of a posterior sulcal plate (Sp) with posterior attachment pore.

Cells are small to medium-sized, 22.9-32.0 μm long, 25.8-32.1 μm wide (mean: 27 μm long; 29 μm wide). Although isolated cells are frequent, this species can form chains (basically 4 cells per chain, but 2 to 8 are also observed). Cells are flattened anterior-posteriorly when in chains, although single cells are sometimes isodiametric in shape. When dyed with calcofluor and observed under blue-excitation, plates can be observed. The triangular apical plate (Po) shows a connecting pore located near the comma head to its right. Plate 1' is directly connected to Po. The anterior right margin of 1' is usually concave, but it does not have a ventral pore. Plate 6'' is of medium width. The sulcal plate (S.p.) is almost as wide as it is long and presents a connecting pore to the right of the plate. Both pores (in Po and S.p. plates) are transitory characteristics associated with chain formation.

Large-scale distribution pattern along Catalan coast over four years

Alexandrium catenella appears simultaneously at several stations every year, i.e. in 1997 at the beginning of July, in 1998 in late May, in 1999 in mid-late June (Fig. 3). In the Barcelona harbour blooms lasted several months and attained high densities (10^5 – 10^6 cells·L⁻¹). However, at many stations (Garraf, Olímpic, Premià, Arenys and Calella) the population never reached high densities (below 10^4 cells·L⁻¹) and cells were present only during a few sampling occasions, often discontinuously. In the summers of 1998 and 1999, the maximum cell concentration occurred during the same week at several stations. In 1998, the maximum cell concentration was observed at the end of May at the southernmost stations (Coma-ruga, Vilanova) and at the beginning of July in the northern stations. In 1999, maximum cell concentration was observed at the end of June at all stations. Bloom terminations coincided at several stations in mid-September, except in 1999 when some cells were observed in mid-October.

Widespread blooms

In the summers of 1998 and 1999, two widespread blooms of *Alexandrium catenella* were also observed in non-confined waters (open beaches) and semi-enclosed beaches such as Cambrils (Fig. 1b). These blooms coincided with sunny days and calm weather, with surface water temperature of 20-25°C. Maximum cell concentrations and the area affected are summarised in Fig. 4. Maximum cell concentrations in non-confined waters were 10^4 cells·L⁻¹ (1998 event) and 10^5 cells·L⁻¹ (1999). More than 10^6 cells·L⁻¹ were detected in some harbours

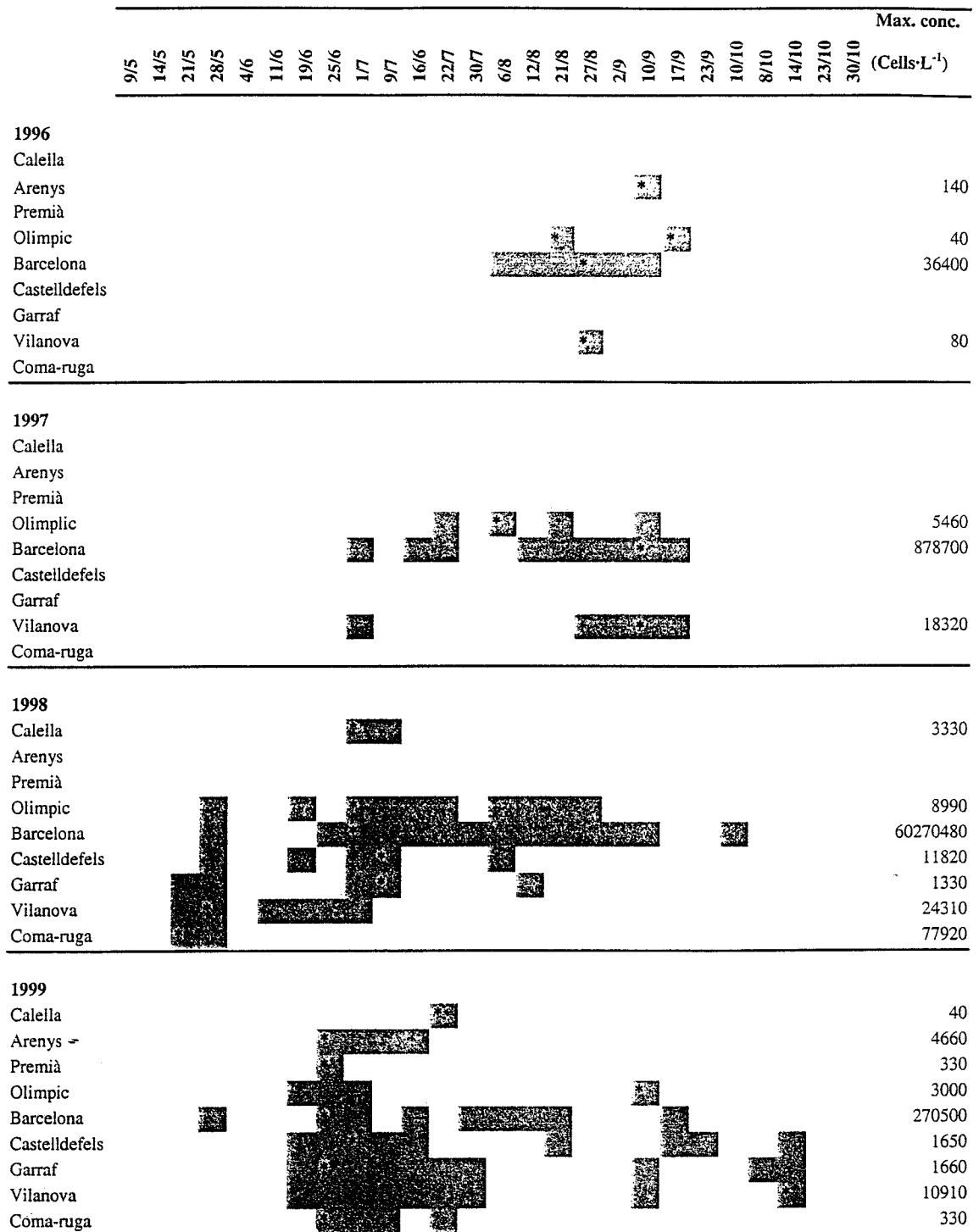


Fig. 3. Vegetative cell occurrence of *Alexandrium catenella* from 1996 through 1999 based on weekly samples during the warm months (May-October). Only the stations where the organism was present are shown. Note that 1995 is not shown because the species was not observed. Maximum cell concentration detected is given for each station; asterisk indicates the date of maximum concentration.

in 1998, and more than 10^5 cells·L⁻¹ in 1999. In both 1998 and 1999, saxitoxin concentrations exceeded EU acceptable levels (AOAC 1980): up to 983 µg STX/100 g in 1998 and 150 µg SXT/100 g in 1999. In 1999, bloom duration was shorter and the maximum cell concentration and shellfish toxicity were lower than in 1998. However, in both years, *A. catenella* persisted in the confined waters for much longer (e.g. from July to mid-September in the Barcelona harbour) than in non-confined waters. The widespread blooms lasted for 8 weeks in 1998 and 4 weeks in 1999.

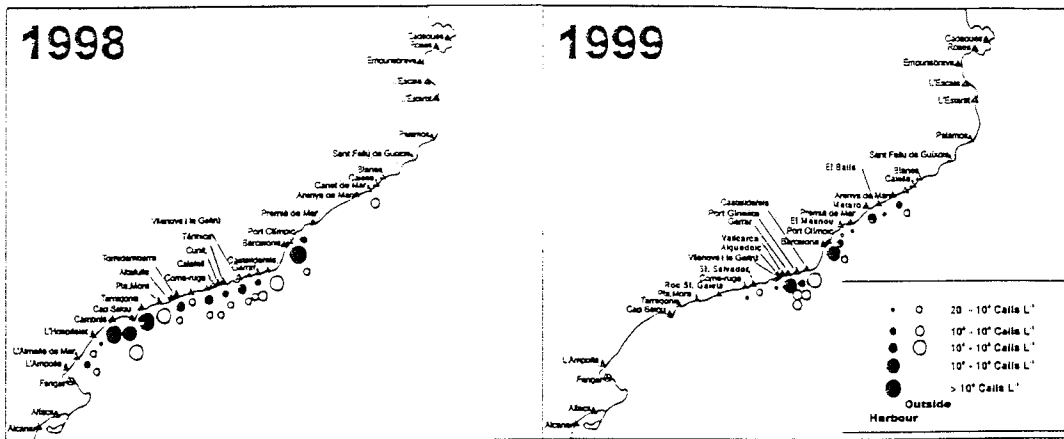


Fig. 4. Maximum coastal extension and concentration of *Alexandrium catenella* during the widespread blooms in summer 1998 and 1999 (Closed symbols represent cell concentration inside confined areas such as harbours or embayments; Open symbols represent cell concentration in non-confined waters). Triangles indicate the location of stations monitored.

Alexandrium catenella in the Barcelona harbour

Alexandrium catenella was first observed in the Barcelona harbour during August-September 1996 reaching cell concentrations of up to 36.400 cells·L⁻¹. Since this summer, it has been observed every year in the harbour during the warm months (from May-June to September-October), achieving cell concentrations of up to $60 \cdot 10^6$ cells·L⁻¹ (Fig. 5). Thus, *A. catenella* shows well defined seasonality, with its vegetative cells detected only in water temperatures of 22-28°C. In general, abundance increases suddenly, coinciding with the increase in water temperature (above 22°C) that occurs in May-June. Maximum cell densities between 10^5 - 10^6 cells·L⁻¹ were observed during July-August coinciding with water temperatures above 24°C. The decrease in cell densities in September coincided with the decrease in water temperature during this month. No cells were found after October. Temperature and *A. catenella*

concentrations are weakly but significantly correlated ($n=36$, $r= 0.4$, Fig. 6) in this harbour. However, no significant correlation exists when we consider all the stations.

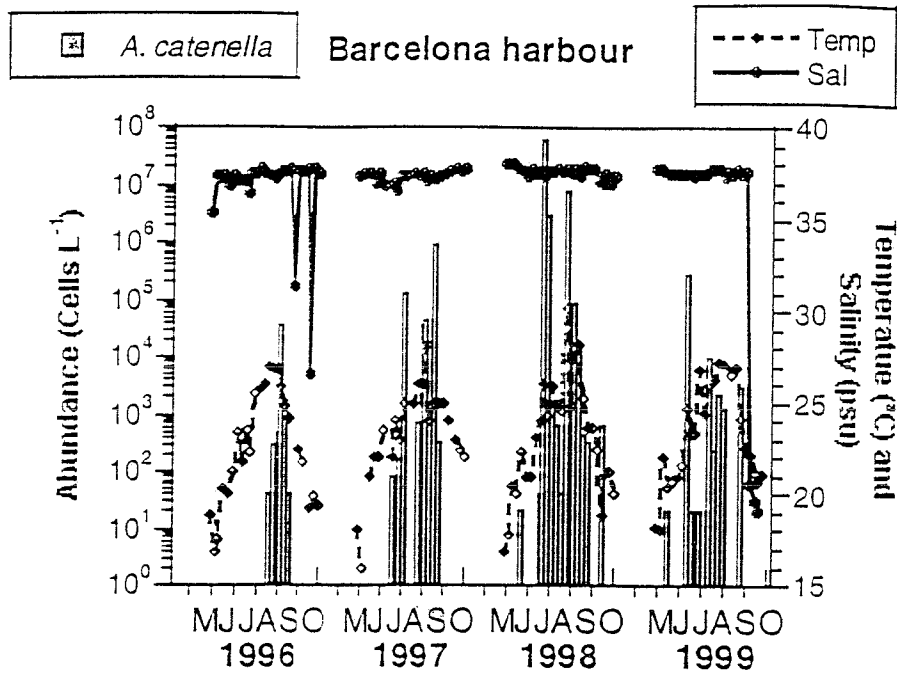


Fig. 5. Summer evolution (May-October) of cell density of *Alexandrium catenella* at the Barcelona harbour based on weekly samples (1996-99) and associated temperature and salinity.

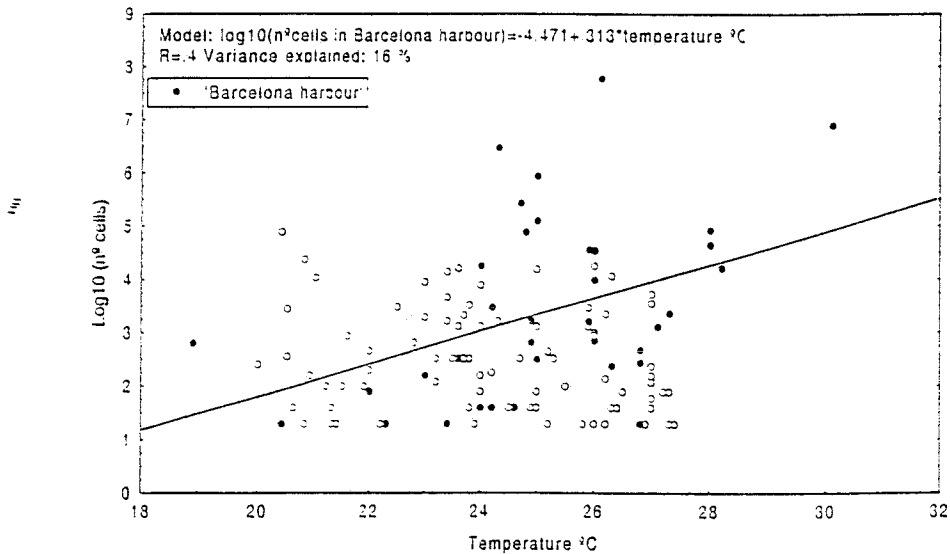


Fig. 6. Relationship between temperature and *A. catenella* concentrations in all the positive stations. Closed symbols represent Barcelona harbour data, the rest are represented by open symbols. A weak correlation exists when we consider only the Barcelona harbour data.

Discussion

Alexandrium catenella is considered to be a cold-water species that is seldom found at temperatures over 12°C and usually does not reproduce at above 16°C (Balech 1995). However, there are some reports that contradict the above assertion. It bloomed in Japanese waters (Tanaby Bay) during May 1981 and 1984 reaching up to $3,5 \cdot 10^6$ cells·L⁻¹ with water temperatures between 19.8 and 21.5°C (Takeuchi *et al.* 1990, Takeuchi 1994). Furthermore, Balech (1995) described the species *Alexandrium* sp. II from warm waters of Mexico (in the Pacific Ocean, in the state of Jalisco) which is morphologically similar to *A. catenella* and *A. fundyense*, and that forms chains of between 2 and 6 cells. However, the size reported for this organism is larger than that of the Mediterranean organism. The Mediterranean *A. catenella* was identified in this study based on the cell morphology and the thecal plates pattern and was characterised (Avila *et al.* 1999) by the toxin profile. These authors claimed that the profile obtained was the typical one for *A. catenella* and it cannot be confused with other dinoflagellate PSP producers from the Mediterranean. The blooms reported here contribute to extend the range of temperatures where this organism can bloom. The well-defined seasonality during the summer months in Catalan waters makes it clear that under water temperature over 20°C this species not only survives, but also blooms. *A. catenella* is, thus, a cosmopolitan species that can live in a wide range of temperatures from cold to warm waters. It is tempting to suggest that the warm *Alexandrium* sp. II of Balech (1995) can be related to the *A. catenella* from the Mediterranean and that of Japanese waters.

The historical absence of *Alexandrium catenella* in the samples taken for monitoring before summer 1996 (Fig. 3) suggests that during recent years the dinoflagellate is expanding its geographical distribution along the Catalan coast. This is of importance because its toxicity may cause important economic damage to aquaculture and the shellfish harvest. There are three possible explanations that have been suggested for the world-wide increase of HABs: 1) The increase in the researcher energy allocated to phytoplankton study and the increase in knowledge, 2) the phytoplankton stimulation due to the effect of anthropogenic eutrophication, and 3) an increase in the geographical dispersion due to the transport of resting cysts in ballast water, or due to the movement of mollusc stocks from one area to another.

We do not think that in our study area *Alexandrium catenella* had been missed in the past. Despite the long tradition of phytoplankton studies, the species was only observed once in very low concentrations (Margalef and Estrada 1987). So that, we can conclude that there has been an increased abundance and distribution along the NW Mediterranean.

The second explanation suggested for the world-wide increase of HABs is the stimulation due to the eutrophication effect of anthropogenic activities. Coastal waters all over the world are generally sufficiently rich in nutrients and the coast studied is no exception. The imbalance in the ratios between nitrogen, phosphorus and silicate has been reported as a cause of changes in phytoplankton communities (Justic *et al.* 1995). The general shift in nutrient ratios toward silicate limitation, as suggested previously, could favour growth of dinoflagellates over diatoms.

The third explanation is the recent importation of the species to the area. The non-indigenous dispersion of species in marine coastal waters due to cargo-vessels ballast water was first suggested 90 years ago (Ostenfeld 1908), but reports on the occurrence of dinoflagellate cysts in ballast water appear much later (Hallegraeff *et al.* 1990, Hallegraeff *et al.* 1991, Hallegraeff and Bolch 1992). Since then, the number of studies dealing with this topic has increased, with major attention to the dispersion of potentially toxic phytoplankton due to their economic importance. Nowadays there are already evidences of the introduction of species through ballast water in some regions (Sholin 1996, Hallegraeff 1998). Also the mollusc stocks movement from one area to another has been implicated in the dispersion of dinoflagellates (Laabir and Gentien 1999). *A. catenella* is one of the species now believed to have been introduced into Australian waters from Japan through ballast water transportation in the last 10-20 years (Sholin and Anderson 1996, Hallegraeff 1998). In Hong Kong waters, there was no record of this species until the 1980s and its form of introduction is still under discussion; Ho (1998) claimed that oceanic currents introduced it from Japan. The hidden flora cannot be discarded as inoculum of the blooms because cells were previously detected in Mediterranean oceanic waters (Margalef and Estrada 1987). However, the fact that the bloom was first observed in the Barcelona harbour, an important commercial harbour in the area, points to ballast water as the source of introduction. 17,251 m³ of water is ballasted monthly into the Barcelona harbour area (inside the harbour or in the nearest 12 miles). Other than Mediterranean waters (60%), a large amount of ballasted water entering the harbour (21%) comes from the South and North Atlantic Ocean (African and European coast) and the North

Pacific Ocean (Asian coast) (Autoritat Portuària de Barcelona, 2000). Considering that 85-95% of ballast waters imports in the Barcelona harbour have been transported during less than 30 days, there is a good probability that viable cysts could arrive. The possible origin of *A. catenella* in the Mediterranean will not be discussed further in this study. Future work will be focus on this topic. What we propose here is a fourth possibility to explain the *A. catenella* expansion along the Catalan coast. This aspect has hardly been considered, but may be the most relevant in calm, tideless seas and on heavily humanized coasts such as those found in the Mediterranean. Recreational use of the coast generates the construction of harbours or enclosed beaches. This, together with the mild effect of tides in the area generate semi-enclosed bodies of water with residence times of c. 20 d⁻¹. Thus, these confined environments have high water residence times, low turbulence and low advection in comparison with non-confined waters. Since low turbulence (Margalef 1978, Margalef *et al.* 1979) favours dinoflagellate proliferation and some specific properties of these organisms (pattern swimming, auto-regulated aggregation and toxicity) are known to reduce grazing (Fiedler 1982, Bagøien *et al.* 1996, Smayda 1997b, Teegarden 1999), these organisms having low growth rates may bloom in such confined areas. Thus, *A. catenella*, which has a maximum specific growth rate of 0.47-0.55 day⁻¹ in culture under nutrient-saturated conditions (Matsuda *et al.* 1999), can attain high cell densities (up to 10⁷ cells·L⁻¹) in a few days in those rich areas and is also favoured by behavioural strategies (swimming, active vertical migrations and aggregation) (Garcés *et al.*, 2000a).

Much evidence points to a connection between the *Alexandrium catenella* blooms and the dynamics of benthic resting cysts : 1) the simultaneous *A. catenella* appearance along the coast not only in the confined areas where it blooms, but in a much larger area, as exemplified by the widespread summer blooms of 1998 and 1999; 2) the observation of hypnozygotes enveloped in a matrix of mucilage at Castelldefels beach coinciding with a decline in the planktonic population in July'99 (data not shown); 3) the seasonal reoccurrence of *A. catenella* observed every year at an increasing number of confined stations (Fig. 3). This latter fact could be due to cyst deposition in previously unaffected areas which provided the species with widely dispersed inoculum sites for future blooms, as has been suggested for other areas (Anderson and Wall 1978). Harbours are considered to be ideal environments for cysts to settle and remain in seedbeds until environmental conditions induce their germination (Anderson *et al.* 1987). The active growth rate of a small germinating population amplified by the organism behaviour, the reduction of grazing and the favourable physical factors

commented above could cause the blooms in harbours.

The different confined blooms found in the study area are probably part of one single widespread and amplified bloom within harbours due to specific favourable environmental conditions in confined waters, as was proposed for *Alexandrium taylori* (Garcés *et al.* 1999b). Maximum cell concentration in harbour stations during summer 1998 and 1999 were coincident with maximum cell concentration at non-confined and open-water stations (detailed in Vila *et al.* 2001b, veigeu Capítol 3) showing a connection between confined, non-confined and open, near-shore blooms.

The problems associated with *A. catenella* blooms in Mediterranean coastal waters have increased in the few last years. We do not want to imply that the humanization of coastlines has changed in the last 5 years, coinciding with the bloom of *A. catenella*. However we argue that the Catalan coast has the right conditions for dinoflagellate colonisation and later expansion as well as for colonisation by new species. So, if a new species arrives, the increased number of confined environments will facilitate colonisation and establishment by the organism. The wide geographical and temporal distribution of *A. catenella* in Catalonia during the last four summers indicates that it is currently well established in the region, and is a great contributor to the summer phytoplankton community in many confined areas and, sometimes, in non-confined waters. Our results suggest that in the future the species might further expand its geographical extension into the Mediterranean Sea. However; this possibility has to be considered with caution. Recently, *A. minutum* was reported to exhibit a cyclic occurrence pattern, i.e. an increased, stabilisation and decreased occurrence (Ismael and Halim 2000) in the eastern harbour of Alexandria, the type locality of the species. This dinoflagellate had been a recurrent summer phenomenon for 40 years. However, after 1994 it disappeared, and daily observations in the summer of 1999 showed *A. minutum* to have been replaced by a community of other potentially harmful species. In that sense HABs can be assimilated to the emergence of new invasive plagues or pests in agriculture, depending on the establishment of, and their replacement by other species.

CAPÍTOL 3

Vila M, Delgado M, Camp J (2001) First detection of widespread toxic events caused by *Alexandrium catenella* in the Mediterranean Sea. In: Hallegraeff GM, Blackburn SI, Bolch CJ, Lewis RJ (ed) Harmful Algal Blooms 2000. Proc 9th Int Conf Harmful Algal Blooms. IOC, Paris, (in press)

Capítol 3

First Detection of Widespread Toxic Events caused by *Alexandrium catenella* in the Mediterranean Sea through a Monitoring Harbour Programme

Abstract

Two widespread toxic blooms caused by the PSP-producer *Alexandrium catenella* are documented for first time in the Mediterranean Sea. These blooms occurred the summers of 1998 and 1999 and affected confined and non-confined near-shore waters along 100 km of the Catalan coastline. The maximum cell concentrations reached was above 10^6 cells·L⁻¹ in confined waters and above 10^4 cells·L⁻¹ in non-confined coastal waters. Shellfish collected for toxicity analysis revealed PSP levels of up to 983 µg PSP/100 g mussel meat.

Introduction

Alexandrium catenella has been reported from many cold-temperate areas (Taylor *et al.* 1994; Balech, 1995; Steidinger and Tangen, 1997). There is a scarcity of references from the Mediterranean Sea (Margalef and Estrada, 1987; Gomis *et al.* 1996). However, in August 1996 an *A. catenella* bloom was observed in the Barcelona harbour for the first time. Recurrent blooms were observed in the following years in an increasing number of stations along the coast, suggesting a progressive areal expansion in the area (Vila *et al.* 2001c, veigeu Capítol 2).

Here we present the first widespread toxic events caused by the dinoflagellate in the Mediterranean Sea. The occurrence of these widespread *A. catenella* blooms in Mediterranean waters is discussed in relation to their possible origin and their extension in the close coastal waters.

Materials And Methods

Sampling strategy

Catalonia (about 400 km of coast) is situated in the NW Mediterranean Sea (NE Spain). A Monitoring of Harmful Phytoplankton Programme, based on the sampling of confined areas (Vila *et al.* 2000, Vila *et al.* 2001a, veigeu Capítol 1) is performed there since 1995 (Figure 1). The sampling interval being once a week from May to October, and twice a month from November to April, except for the Ebre Delta area which is sampled weekly year-round. After the *A. catenella* detection in some stations, surveillance was increased collecting additional samples in the neighbouring confined and non-confined waters. So, from 2 June until 19 July 1998, 11 confined and 30 non-confined stations were sampled for phytoplankton quantification, and 8 confined and 14 non-confined additional stations from 5 to 20 July 1999. These samples were taken with different frequencies, being the more intensively (up to every 2 days) sampled those stations where the dinoflagellate was present. The harbours were sampled in the most confined area and the non-confined stations near the coast (where the water column is 1-m depth). Samples were taken at surface.

On 6-10 July 1999 five transects (arrows in Figure 1) were performed in open near-shore waters, from the coast to 2.5 miles into the sea (located at 0, 0.5, 1, 1.5 and 2.5 miles from the coast). In the Barcelona and Castelldefels transects, CTD profiles were obtained and water samples were taken with Niskin bottles. Phytoplankton samples were preserved with formaldehyde (1% final concentration), settled and counted using an inverted microscope. *A. catenella* identification was reinforced with SEM microscopy.

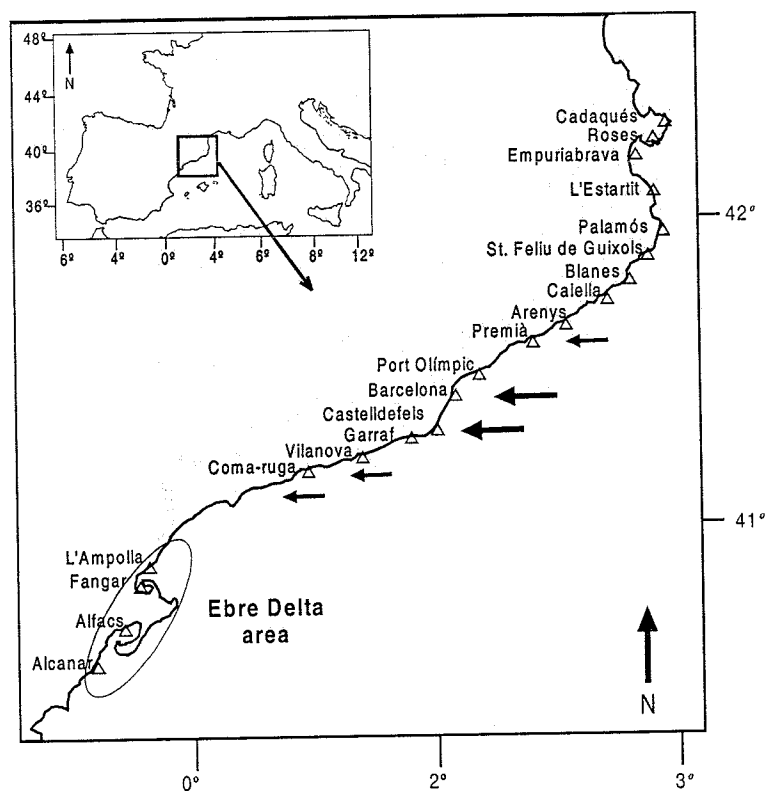


Fig. 1. Map showing the location of Catalonia in the NW Mediterranean Sea and the location of the stations sampled for the Monitoring of Harmful Phytoplankton Programme. Arrows indicate the location where transects were performed (the big arrows represent transects shown in Fig. 4).

Shellfish toxicity

During the events, shellfish samples were collected for toxicity analysis in some confined and many non-confined stations covering all the area affected by the dinoflagellate. The shellfish samples were collected at different stations independently of the *A. catenella* density. The objective was to delimit the toxic area and, when toxicity was recorded, to follow the toxicity

pattern. Thus, 78 shellfish samples were taken during the 1998 bloom (from 27 May to 10 July) and 19 during the 1999 bloom (from 5 to 20 July). The main organisms sampled were mussels (*Mytilus galloprovincialis*). However other organisms such as wedge clams (*Donax trunculus*), striped venus (*Chamelea gallina*) and purple dye murex (*Bolinus brandaris*) were also tested for toxicity. Toxicity analysis was done following the standard mouse bioassay method (AOAC, 1980). The permissive toxicity level in the EU is 80 μg saxitoxin-eq./ 100g of mussel meat.

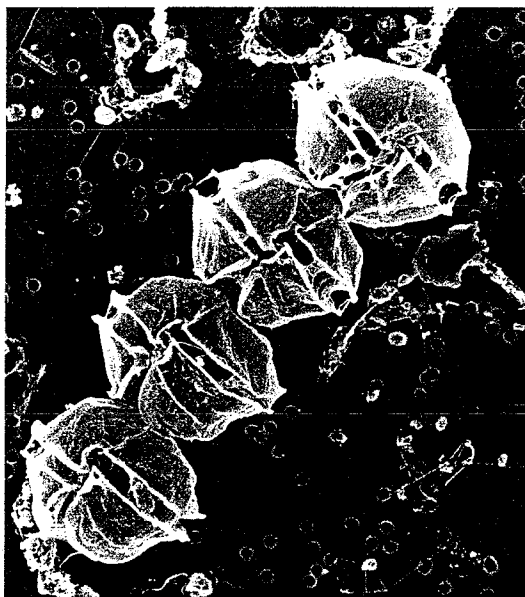


Fig. 2. Scanning electron micrograph of *Alexandrium catenella*.

Results

In the summer of 1998 a huge bloom of the dinoflagellate *A. catenella* (Figure 2) occurred affecting about 100 km of Catalan Coast and it was related to high PSP toxicity levels in this widespread area (Figure 3a). From May to the middle of June the beginning of the development phase was characterised by cell concentrations above 10^4 cells·L⁻¹ in non-confined waters and up to several millions of cells·L⁻¹ in some confined waters. In the Barcelona harbour the bloom started a month later than in the other stations. During the

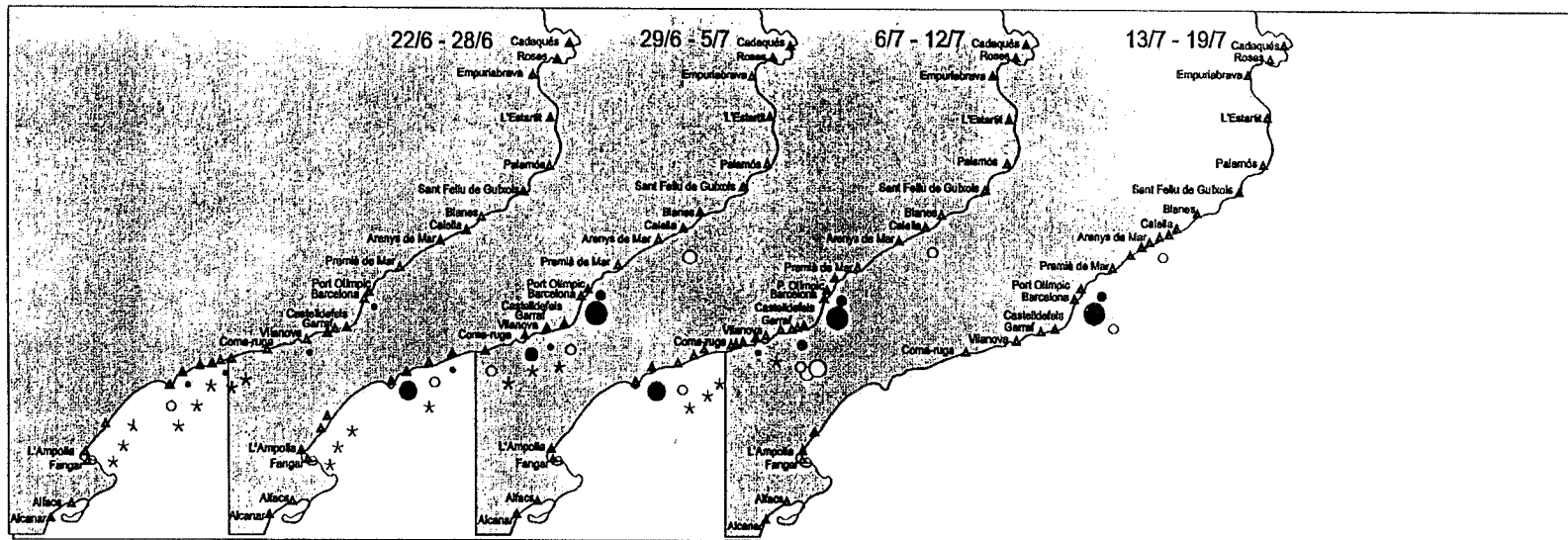
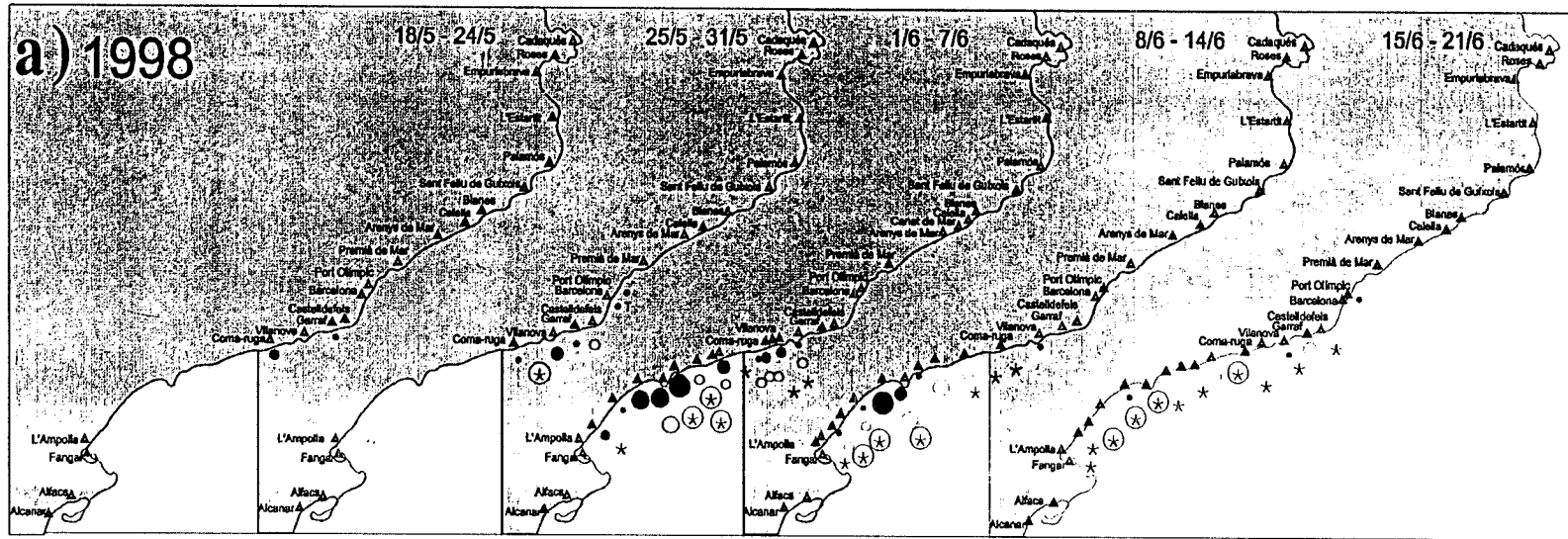
second half of June and July the bloom expanded to nearby waters. After that evenly a decay in cell abundance was observed in most stations, except in some confined areas such as the Tarragona and Barcelona harbours where the dinoflagellate was detected for longer times (e.g. end of August and mid September, respectively). The PSP toxicity sequence showed the same pattern as the cell concentration of *A. catenella* but with a delay of about a week.

The higher toxicity levels occurred between 1-7 June. The highest level (983 μg PSP/ 100 g mussel meat) was detected in the surroundings of the Tarragona harbour. But also high toxicity levels (527 and 784 μg PSP/ 100 g) were recorded in non-confined coastal waters not far away from that. Positive PSP values (higher than 80 μg PSP/ 100 g mussel meat) were detected from 1 until 21 June. During these three weeks, shellfish extraction was prohibited, this was announced in the local press and no human intoxications were recorded.

In the summer of 1999 the duration of the *A. catenella* presence, the maximum cell concentration reached, and the shellfish toxicity were lower to the previous year. Cells of *A. catenella* (Figure 3b) were detected in the confined and non-confined stations from the middle of June to the end of July (except in the Barcelona harbour where it was present until the end of August). In non-confined waters, it was only abundant ($>10^3$ cells $\cdot\text{L}^{-1}$) from the end of June to the middle of July. Positive shellfish toxicity (> 80 μg PSP/ 100 g) was only detected in two stations at the beginning of July: one confined (149 μg PSP/ 100 g, Vallcarca harbour) and one non-confined station (109 μg PSP/ 100 g, Castelldefels beach). Shellfish extraction was prohibited for two weeks.

The transects, performed perpendicularly to the coast, showed summer stratification (data not shown). Water temperatures ranged between 20-25°C at surface, going down to 13.5°C at depth. Salinity ranged between 37.5-38.3 psu. Fluorescence levels and the cell distribution of *A. catenella* in two transects perpendicular to the coast are shown in Figure 4.

Fluorescence shows two maximum levels, one in the upper inshore coastal waters, and another one below 30-40 m depth. However, the highest cell concentrations of *A. catenella* were only detected at surface and near the coast. This also happened in the other 3 transects (not shown). The phytoplankton community was dominated by dinoflagellates, mainly



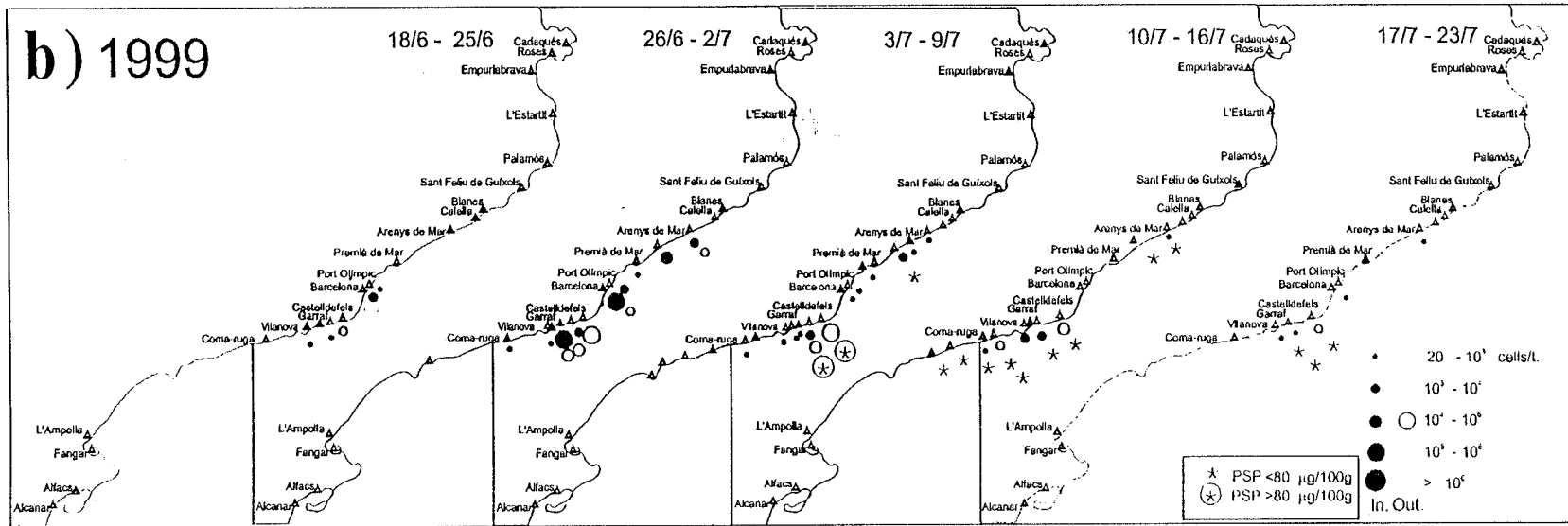


Fig. 3. Weekly distribution of *A. catenella*'s cells and toxicity during the widespread bloom in (a) summer '98 and (b) summer '99. Only the Monitoring Programme stations are named. Unnamed stations are the additional stations. (Black circles represent cell concentration inside confined areas and open circles in non-confined water; Asterisks represents shellfish toxicity).

Scrippsiella spp. Other dinoflagellates observed were *Mesoporus perforatus*, *Heterocapsa* sp., *Prorocentrum minimum*, *P. triestinum*, *P. micans*, *P. compressum*, *Protoperidinium* spp., *P. diabolium*, *Dinophysis sacculus*, *Phalacrocoma. rotundatum* and *Ceratium furca*. Diatoms as *Proboscia alata*, *Pseudo-nitzschia* sp., and the coccolithophorid *Syracosphaera pulchra* were also present. The ratio *Alexandrium*/total dinoflagellates was 8-38% at the surface stations along the Castelldefels transect. However in the remaining 4 transects the highest values were below 5%, although values below 2% were most usual.

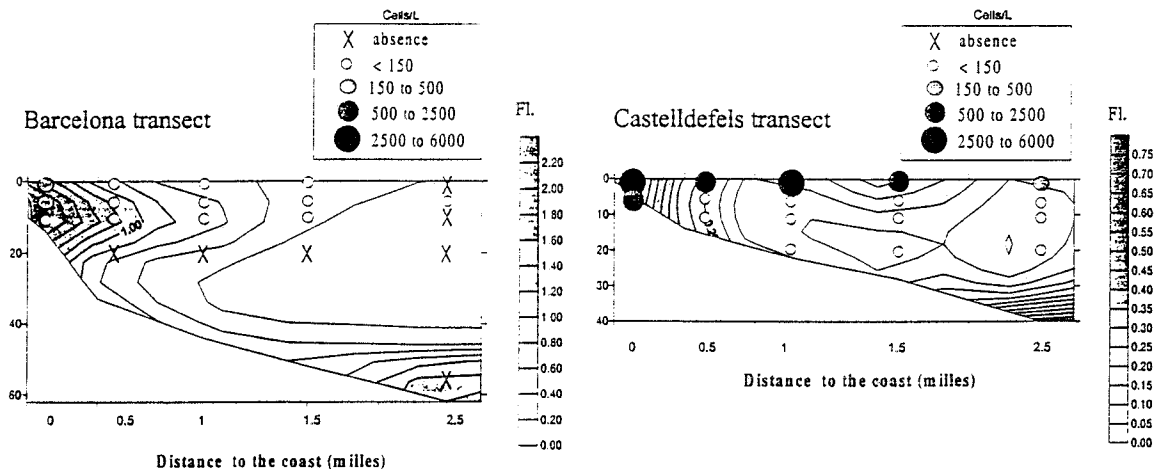


Fig. 4. Vertical cell distribution of *A. catenella* (cells·L⁻¹) and fluorescence (r.u.) at the Barcelona and Castelldefels transects during the cruise on board of “Mar Blau” on 6-10/7/99.

Conclusions

While toxic events (both PSP and DSP) in the Mediterranean Sea have mainly been described in confined waters such as bays, lagoons and harbours, *Alexandrium catenella* bloomed both in confined and non-confined coastal waters. The two widespread blooms occurred during summer months, with open water temperatures of 20- 25°C.

The spatio-temporal distribution of *A. catenella* during the two events suggests three hypotheses for the origin of the bloom. The first one is the origin of blooms in harbours and later expansion to open surrounding waters. Harbours may also better retain seedbed cysts

than open areas, so blooms can easily begin inside harbours. The second one as originated in open coastal waters with general low concentrations of cells, which are then amplified in harbours. The differences in cell concentration must be explained by the reduced water turbulence and increased residence time in confined waters as which represent not only better conditions to grow but also reduced cellular dispersion. And the third one, a more or less simultaneous germination of *A. catenella* cysts in both open and confined waters triggered by environmental conditions. However, the data available does not give us the possibility to determine where did the bloom originate.

Cell toxicity is not a constant, it may change in different strains, environmental conditions and development phase. The minimum cell concentration of *A. catenella* thought to intoxicate shellfish is 10000 cells·L⁻¹ (Horner *et al.* 1990). In Sechlet Inlet, Taylor (Taylor *et al.* 1994) observed toxicities up to 31000 µg PSP/100g in relation to *A. catenella* concentrations of 35000 cells·L⁻¹. In Catalonia, the maximum *A. catenella* cell concentrations was always detected inside harbours (60x10⁶ cells·L⁻¹ in Barcelona harbour; see Capítol 2) however the highest toxicity was always detected in open waters (e.g. 748 µg PSP/100g and was related to cell concentrations of up to 1-2.5x10⁴ cells·L⁻¹). This can be explained by the shellfish filtering stopping in response to very high concentrations of toxic organisms.

The maximum toxicity detected in shellfish during the widespread blooms in Catalonia together with the results of the toxicity profile of this species (J.Franco, personal communication), indicate that *A. catenella* blooming in Catalan waters has a low toxicity as compared to the one reported by Taylor (Taylor *et al.* 1994).

After- these widespread blooms, caution should be taken in the monitoring of toxic phytoplankton in the Mediterranean area.

CAPÍTOL 4

Vila M, Garcés E, Masó M. (2001) Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquat Microb Ecol* (in press)

Capítol 4

Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean

Abstract

A potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblage on macroalgae was studied for one year in a shallow protected rocky habitat in Palamós (Costa Brava, NW Mediterranean). The assemblage was monitored on four macroalgae: *Corallina elongata* (Rhodophyceae), *Dictyocha dichotoma*, *Dilophus fasciola* and *Halopteris scoparia* (Phaeophyceae). The dominant dinoflagellates was *Ostreopsis* sp., and the accompanying species were *Coolia monotis* and *Prorocentrum lima*. The diatom *Coscinodiscus* sp. was an abundant component of the community. *Ostreopsis* followed the same seasonal pattern on the four macroalgae selected. Substrate was not significantly different for the dinoflagellate assemblages. *Ostreopsis* was present both in the water column and in the sand concomitant with maximal cell densities on macroalgae. Small-scale sampling revealed that all the epiphytic organisms prefer slightly shaken habitats. While *Ostreopsis* sp. prefers shaken to slightly shaken waters, *Coolia monotis* prefers slightly shaken to calm ones. The dinoflagellate assemblage follows a clear seasonal pattern, achieving maximum cell concentration during spring and summer without significant relative changes in the species composition. The epiphytic assemblage was widespread along the Catalan coast and Majorca, although dinoflagellates densities were found to be more abundant in the Costa Brava. In Corsica, the community was dominated by diatoms whereas, *Ostreopsis* sp. was a minor component.

Introduction

The relevance of epiphytic (in close association with macroalgae) and benthic (in coral rubble, sand and detritus) dinoflagellates stems from the fact that *Gambierdiscus toxicus* causes ciguatera (Yasumoto *et al.* 1977, Adachi and Fukuyo 1979). Ciguatera or ciguatera fish poisoning (CFP) is a human disease caused by the ingestion of contaminated marine finfish from tropical and subtropical regions, which results in gastrointestinal and neurological disorders and sometimes death. These symptoms may be caused by polyether toxins (ciguatoxins and maitotoxins, among others), which are produced by marine epiphytic dinoflagellates (see Steidinger 1983). Macroalgae (and epiphytic assemblages of harmful dinoflagellates) are eaten by herbivorous fish, which then become toxic. Thus, the toxins are biologically concentrated within the food chain (Steidinger and Baden 1984). A dinoflagellate assemblage in the genera *Ostreopsis*, *Coolia*, *Prorocentrum* and *Amphidinium* has also been reported in ciguatera-endemic areas. In particular *Prorocentrum lima*, *P. concavum*, *Ostreopsis siamensis* and *O. ovata* have been implicated in CFP by evidence based on distribution, toxicity to mice and the presence of a fat-soluble toxic fraction (Yasumoto *et al.* 1980, Nakajima *et al.* 1981). These organisms form epiphytic communities associated with coral reefs, or rather with macroalgae attached to coral surfaces. These assemblages may vary in species composition and cell concentration between sites (Tindall and Morton 1998). The mixed association of toxic dinoflagellates may contribute to the polymorphism of the clinical features of ciguatera (Yasumoto *et al.* 1987).

Ostreopsidaceae species are widespread in most epiphytic/benthic dinoflagellate communities from ciguatera-endemic regions of the world (35°N-35°S latitude). Thus, the geographic distribution of *Ostreopsis siamensis*, *O. lenticularis* and *O. ovata* is similar to that of *G. toxicus* (Tindall and Morton 1998), with two notable exceptions: *O. siamensis* and *O. ovata* have been reported in the Mediterranean Sea (Taylor 1979, Tognetto *et al.* 1995). Nevertheless, data is limited on the incidence of *Ostreopsis* in the waters of the Mediterranean Sea, and on the magnitude of potentially toxic epiphytic dinoflagellate community attached to macroalgae.

The dominant dinoflagellate *Ostreopsis* sp. could not be assigned to any described species. Thus a brief description of the species with SEM microphotographs is included for further considerations.

In this study, we report on the quantification of epiphytic dinoflagellates assemblage in the Catalan coast, NW Mediterranean. The potentially toxic epiphytic dinoflagellate community associated with macroalgae was examined during an annual cycle in a rocky habitat. In addition, small-scale spatial variability and middle-scale spatial distribution analyses were performed to shed some light on the epiphytic dinoflagellate assemblages in the NW Mediterranean.

Material and Methods

Sampling sites

Epiphytic dinoflagellates on selected macroalgae (Rhodophyceae and Phaeophyceae) were quantified for one year (July 1997 to July 1998) at the sampling site (station 7). The sampled macroalgae grow in multispecies assemblages attached to stones in the infralittoral. Macroalgal specimens (in triplicate) were collected weekly at 20-40 cm depth during summer (July and August 1997) and monthly during the rest of the year. The sampling site (station 7) was a shallow protected rocky habitat in Palamós (Catalan sea, NW Mediterranean). During summers 1997 and 1998, a more extensive study was carried out: 14 stations were sampled, mainly along the Costa Brava (northern Catalan coast) and in two other Mediterranean areas (Majorca and Corsica) (Fig. 1).

Sampling methods

A subsample (15-20 g fresh weight) was carefully cut and assisted by tweezers it was placed in a small glass bottle containing 10 ml of formaldehyde-filtered seawater. Since the macroalgae community is dynamic and the species composition varies throughout the year, at every sampling date the available macroalgae were taken to cover the annual cycle. The main macroalgae analysed were *Corallina elongata* (Rhodophyceae), *Dictyocha dichotoma*, *Dilophus fasciola* and *Halopteris scoparia* (Phaeophyceae). *Corallina elongata* is present throughout the year; thus we have studied the seasonal patterns in this macroalgae. In addition, other macroalgae were collected sporadically, basically during the cold season, when the 4 target species were very scarce. The additional macroalgae sampled were *Jania corniculata*, *Pterocladia capillacea*, *Laurencia* gr. *obtusata*, *Rissoella verruculosa*, *Ceramium ciliatum*, *Peyssonnelia squamaria* (Rhodophyceae), *Dictyopteris membranacea*, *Padina pavonica* (Phaeophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae).

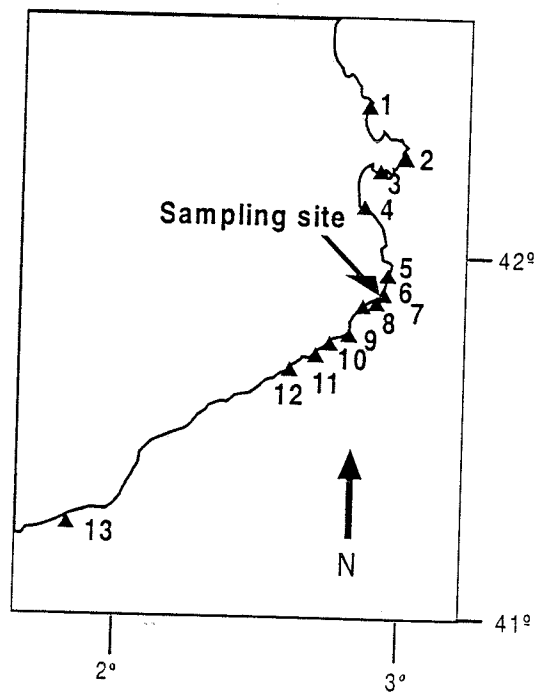
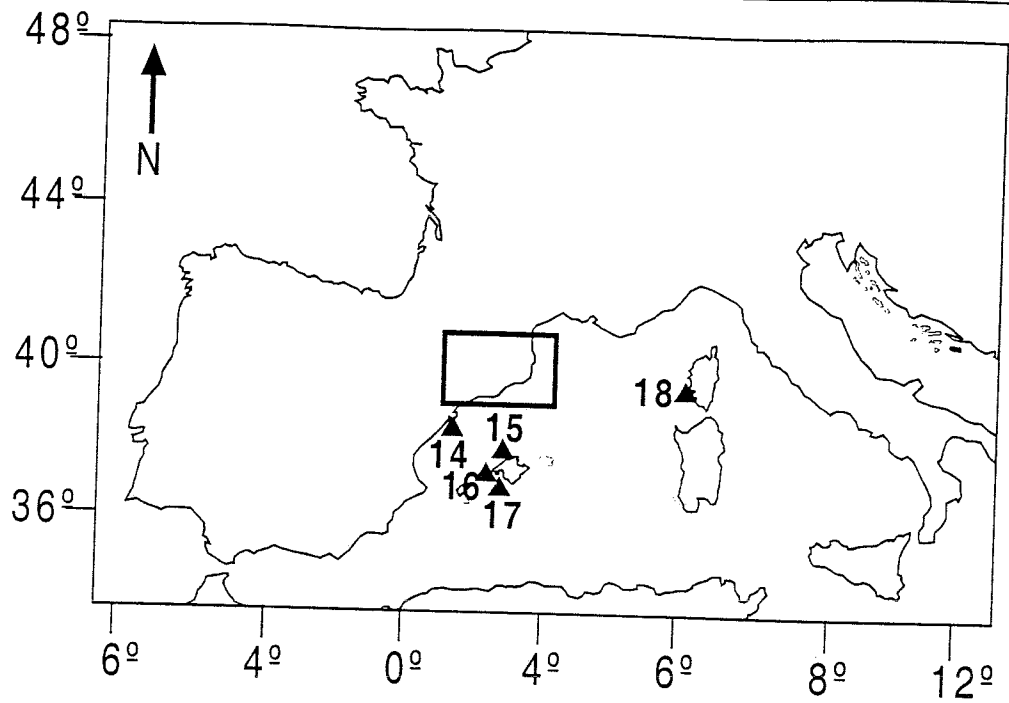


Fig. 1. Study area and stations sampled.

Surface water (0.5 m) and sediment samples were collected in 150-ml and 50-ml bottles and preserved with formaldehyde (1% final concentration) for dinoflagellate examination. Nutrient

samples were taken and frozen immediately and analyzed for nitrate, nitrite, ammonia, phosphate and silicate as described in Grasshoff et al. (1983). Temperature and salinity were measured.

Once in the laboratory, macroalgae bottles were shaken vigorously for 1 min to dislodge the epiphytic organisms. Macroalgae were removed and the sample was settled for 6 hours in 10 ml-counting chambers. An appropriate area of the chamber was then scanned (Thronsen 1995) for epiphytic organism counting at 63-200X magnification using a Leica-Leitz DM-IL inverted microscope. Samples were examined and counted for epiphytic microalgal species. When high densities of organisms were found in the sample, only a sub-sample was examined. Macroalgae were processed for fresh or wet weight (FW) and dry weight (DW). DW was measured after drying the macroalgae in an oven at 60°C. FW and DW were highly correlated (regression analysis, $r^2 > 0.98$). Thus we worked with fresh weight, as is usual in other studies. One-way ANOVA was performed to test differences between the 4 macroalgae for each epiphyte dinoflagellate (4x4) (StatSoft 1996). The analysis was performed during the warmer months to avoid seasonal interactions.

Water samples for phytoplankton quantification settled for 24 hours in 50-ml counting chambers and they were then examined as above. Sediment samples (around 30 g) were sonicated in filtered seawater for 10-15 s and sieved. The fraction 20-135 μm was examined in an inverted microscope, as described above.

In April 1998, small-scale sampling was performed at station 7 to study the spatial variability of epiphytic organisms on *Corallina elongata* in relationship to hydrodynamism. Three hydrodynamic regimes were defined: shaken, slightly shaken and calm. Shaken regimes were observed in sites where macroalgae were directly hit by waves (high hydrodynamism); calm regimes corresponded to sites where macroalgae were protected from the waves by rock barriers (low hydrodynamism); the slightly shaken regimes were the intermediate ones. Macroalgal samples were collected from the 3 habitats and processed as described above. Three sites were sampled at each habitat and 3 replicates were analysed. An ANOVA nested design was performed (3x3x3) (StatSoft 1996).

During summer 1997 and 1998, 14 stations were sampled, mainly along the Costa Brava (northern region of the Catalan coast, Fig. 1) to limit the geographical distribution. Moreover, samples were also taken from Corsica (summer 1998) and Majorca (Balearic Islands, summer 2000) and qualitatively examined for the epiphytic assemblage to determine the extent of the phenomenon in the NW Mediterranean.

Identification of dinoflagellates

Samples were fixed with 4 % glutaraldehyde for SEM microscopy. 1 ml of fixed sample was filtered through a 13-mm diameter and 0.8 μm pore size Nuclepore PC Polycarbonate membrane filter (Costar). Samples were washed in distilled water and dehydrated in an ethanol series (30, 50, 70, 80, 90, 100%) at 4°C, critical point-dried with CO_2 and examined under a Hitachi S-570 Scanning Electron Microscope.

Results

Taxonomy of the epiphytic assemblages

Natural populations of benthic dinoflagellates and diatoms formed a mucilaginous matrix on the macroalgal thallus and aggregated therein (Figs. 2a-b). Cells remained motile within the matrix and loosely linked to macroalgae, as revealed by light microscopy. When the epiphyte community was dense, the brownish mucilaginous matrix covering the surface of the algae was visible to the naked eye.

The dinoflagellate epiphytes community on macroalgae included *Coolia monotis*, *Prorocentrum lima* and especially *Ostreopsis* sp.. The highest *Ostreopsis* sp. concentration was 596×10^3 cells·g⁻¹ FW macroalga on *Halopteris scoparia* in July 1997 or 6270×10^3 cells·g⁻¹ DW macroalgae (estimated by dry weight). *Prorocentrum mexicanum* and *P. emerginatum* were occasionally recorded as minor components of the community. The benthic diatom *Coscinodiscus* sp. was an abundant constituent, sometimes accompanied by other diatoms such as *Striatella* sp. and *Cylindrotheca closterium*. Polychaete and crustacean larvae were often observed.

The morphological features of the dominant species, *Ostreopsis* sp., do not match those described elsewhere (Fukuyo 1981, Norris *et al.* 1985, Quod 1994, Faust and Morton 1995, Faust *et al.* 1996, Faust 1999). *Ostreopsis* cells were usually quite large, pointed toward the

sulcus in apical view and compressed anterioposteriorly (about 22 μm). The dorsoventral diameter (length) was 63-90 μm (average 75 μm) and the transdiameter (width) 34-56 μm (average 45 μm) (Figs. 2c-e). The pore plate (Po) was about 10 μm long. On the epitheca, the 1' plate was large and in contact with plates Po/2', 3', 1'', 2'', 3'', 6'' and 7''. The external part of the thecal plates were covered with one size of pores (0.1-0.2 μm diameter), whereas multi-pore structures were observed (0.4-0.6 μm , not shown) when one looks at the internal part of the thecal plates.

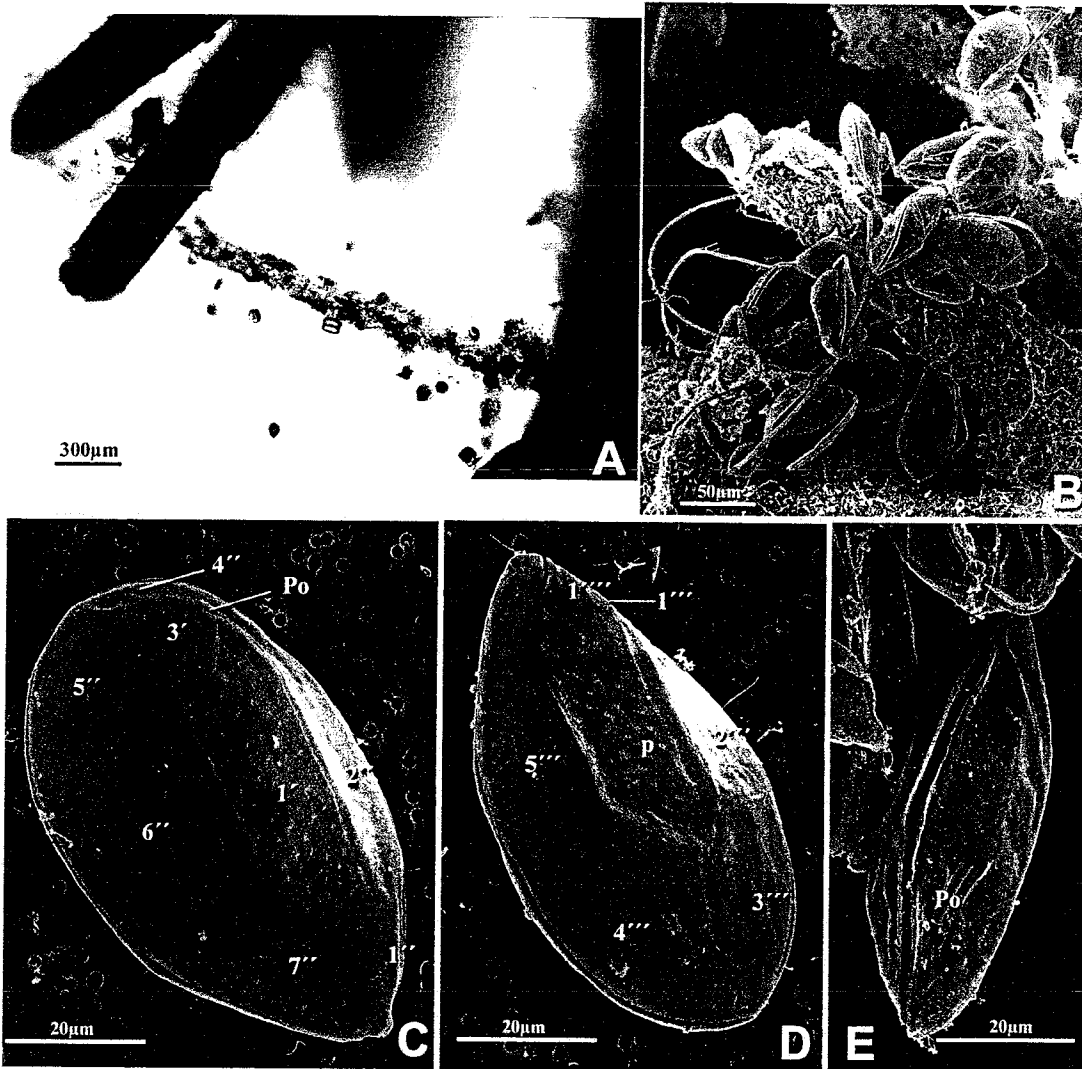


Fig. 2. Mucilaginous matrix of epiphytic dinoflagellates on a macroalgae observed under a) Light Microscope and b) Scanning Electron Microscope. *Ostreopsis* sp. cells viewed with SEM in c) epithelial view, d) hypothecal view and e) left lateral view.

There may be confusion in the literature between the morphology of *O. siamensis* and *O. lenticularis*. *O. siamensis*, which was first described by Schmidt in 1902, was redescribed by Fukuyo in 1981, when he also described *O. lenticularis* and *O. ovata*. *O. siamensis* and *O. lenticularis* were similar in size but differed in the presence of dissimilar thecal pore sizes. *O. siamensis* was found to have one size of thecal pore whereas *O. lenticularis* showed two sizes (Fukuyo 1981). *O. ovata* was smaller in size and showed one size of thecal pores. In contrast, Faust *et al.* (1996) found that *O. siamensis* was bigger than *O. lenticularis*, and had two sizes of thecal pores while *O. lenticularis* had one pore size. Our species agrees with the *O. siamensis* (in cell size and number of pore sizes) described by Fukuyo, but not with the one described by Faust (1996). It also agrees with *O. ovata* in the number of pore sizes, although this organism is smaller than our species. Thus, given the confusion, it was not assigned any specific name. Taxonomical studies and genetic essays are now in progress (Penna *et al.* in prep.).

Preferred habitat and seasonal variability

The temporal variability of the physico-chemical characteristics of the study site is shown in Fig. 3a. Water temperature showed marked seasonality (range: 11.5-26.3°C). The study site received, in periods of rain, freshwater from a small river. Accordingly, salinity oscillated between 37.2 and 38.1 psu. Nutrient concentrations did not show temporal variations. Discrete high concentrations of DIN (dissolved inorganic nitrogen) and silicate were observed during winter and spring.

The concentration of *Ostreopsis* sp. in three habitats (attached on macroalgae, in the water column and sand) is shown in Fig. 3b. *Ostreopsis* sp. was also the dominant species in the water column and sand. The three habitats showed a clear seasonal pattern, with high biomass from late winter until late summer. *Ostreopsis* sp. in the water column achieved high cell concentrations ($> 10^4$ cells·L⁻¹) concomitant with maximal cell densities on macroalgae (10^4 - 10^5 cells·g⁻¹ FW). Cell densities in the water column and on macroalgae were positively and significantly correlated (n=18, Pearson's r=0.82, p<0.001), especially for *Corallina elongata* (n=11, Pearson's r=0.79, P<0.05) and *Halopteris scoparia* (n=8, Pearson's r=0.91, P<0.05). Cells densities in sand followed the same seasonal pattern (although this was not statistically significant, since we worked near the detection limit) as in the water column and on macroalgae. *C. monotis* and *P. lima* were low in numbers in the water column (maximum

cell concentrations: 4600 and 330 cells·L⁻¹, respectively) and they were mostly absent in sand, except on some sampling days (cell concentrations < 2 cells·g⁻¹).

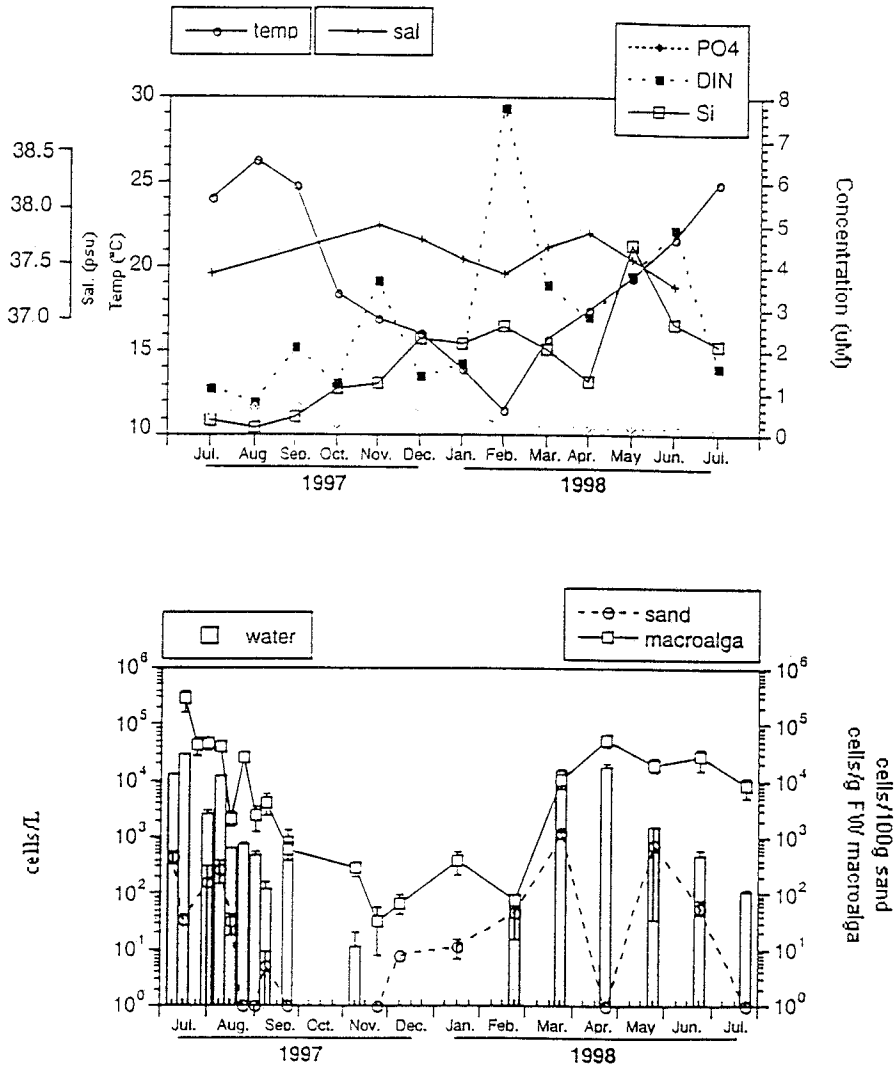


Fig.3. a) Temporal physico-chemical properties of the study area. Nutrient samples on July-September 1997 were taken approx. 200 m. away from the sampling site. b) Seasonal abundance of *Ostreopsis* sp. in the macroalgae, water column and on the sediment at the sampling site. Cells on macroalgae are the averaged values for the four macroalgae sampled. Bars indicate SE. Missing bars correspond to macroalgae that were not sampled.

Ostreopsis followed the same seasonal pattern on the four substrates selected (*Corallina elongata*, *Dictyota dichotoma*, *Dilophus fasciola* and *Halopteris scoparia*) (Fig. 4a). Maximum concentrations were achieved from March to September. A 4-factor ANOVA

(macroalgae) showed that substrate was not significant (ANOVA, $p > 0.05$) for *Ostreopsis* sp., *P. lima* and *C. monotis*, but significant for *Coccinodiscus* sp. (ANOVA, $p < 0.05$). The analysis was performed during the warmest months to avoid seasonal interactions. Table I presents the epiphytic dinoflagellates on additional macroalgal species examined all year round. The epiphytic assemblage of dinoflagellates was the same, with *Ostreopsis* sp. as the most abundant species, among *C. monotis*, *P. lima*. *Coccinodiscus* also reached high cell numbers (Table I).

The distribution of potentially toxic epiphytic dinoflagellate and *Coccinodiscus* assemblages on *Corallina elongata* (*Ostreopsis* sp., *C. monotis*, *P. lima* and *Coccinodiscus* sp.) and monthly relative species abundance are shown in Figs. 4b and 4c respectively. The four epiphytic species followed the same seasonal pattern ($n=37$, Pearson's Product-Moment correlation, $p < 0.05$). Although *Ostreopsis* sp. was the most dominant species, the relative abundances varied (Fig. 4c). For instance, in April *Coccinodiscus* achieved 18 % of relative abundance in *Corallina elongata*, whereas it reached 64 % in the other substrate, *Dicryocha dichotoma* (absolute abundance of 143×10^3 cells·g⁻¹ FW). *P. lima* occasionally achieved high relative abundance (28-49 %), which does not reflect high cell densities (<200 cells *P. lima*·g⁻¹ FW). On the contrary, it is caused by low densities on the whole epiphytic community (80-700 cells·g⁻¹ FW).

The spatial variability of the epiphytic community on *Corallina elongata* is shown in Fig. 5 (April 1998). The photophilic communities of *Corallina elongata* are typical of shaken/turbulent environments. In the area sampled, macroalgae were scarce in the calm area (where fine sandy deposition was observed) and abundant in slightly shaken or shaken areas. Cell densities of all epiphytic organisms were the highest in slightly shaken sites. The dominant species were *Ostreopsis* sp. and *C. monotis*, whereas cell densities on *Coccinodiscus* sp. (<10⁴ cells·g⁻¹ FW) and *P. lima* were very low (<10² cells·g⁻¹ FW). *Ostreopsis* sp. was more abundant than *C. monotis* in shaken sites (75% vs. 19%) and less abundant in calm sites (8% vs. 81%). In slightly shaken sites, the preferred habitat for *Ostreopsis* sp. and *C. monotis*, they were co-dominant (41 vs. 51%) (Fig. 5). Differences between the three regimes (shaken, slightly shaken and calm) were significant (ANOVA, $p < 0.05$), but those within groups (3 sites, 3 replicates) were not significant (ANOVA, $p > 0.05$).

Epiphytic dinoflagellates in the Mediterranean Sea

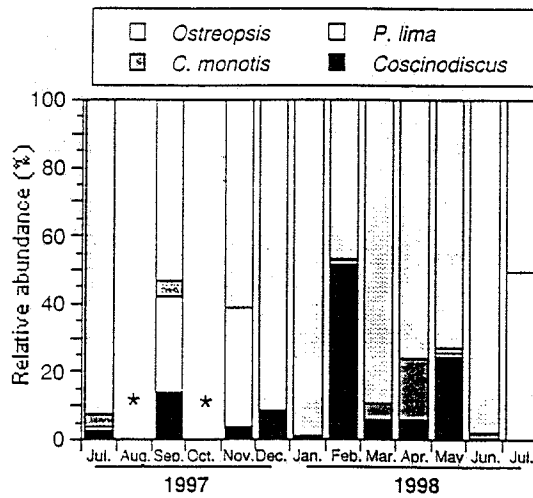
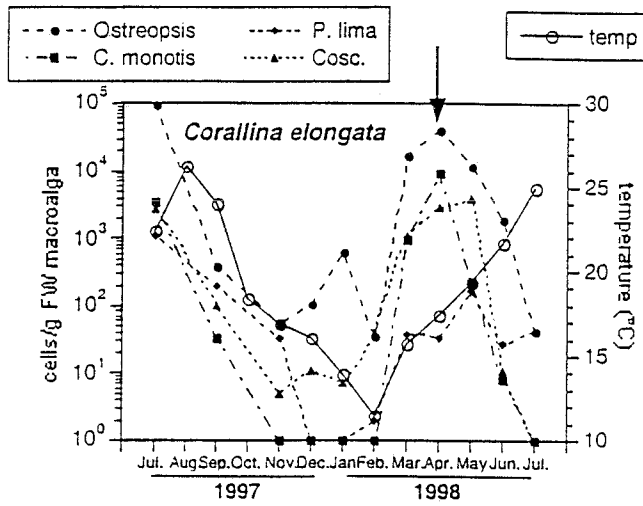
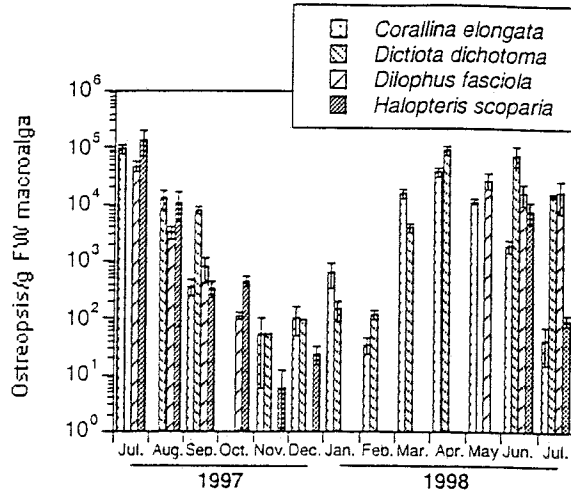


Fig. 4. a) Seasonal abundance of epiphyte *Ostreopsis* sp. on the four macroalgae: *Corallina elongata*, *Dictyochoa dichotoma*, *Dilophus fasciola* and *Halopteris scoparia*. b) Seasonal abundance and c) percentage of the major epiphytic organisms (*Ostreopsis* sp., *C. monotis*, *P. lima* and *Coscinodiscus* sp.) on *Corallina elongata* from July 1997 to July 1998. Asterisks indicate the months in which the macroalgae were not collected. Arrows indicate the day on which intensive sampling was performed to record the spatial variability associated with three hydrodynamic regimes.

Table I. Epiphytic community composition in macroalgae (other than 4 target species) from the sampling site (Palamós) year round. Averaged cell.s.g⁻¹ FW macroalgae.

Macroalgae	season	n	average (cells.g ⁻¹ FW)				%			
			<i>Ostreop.</i>	<i>Coolia</i>	<i>P. lima</i>	<i>Coscin.</i>	Os	Co	Pl	Cs
<i>Pterocladia capillacea</i>	summer	2	2591	90	647	3574	38	1	9	52
<i>Jania corniculata</i>	"	1	1181	47	331	189	68	3	19	11
<i>Laurencia</i> gr. <i>obtus</i>	autumn	2	867	0	397	785	42	0	19	38
<i>Laurencia</i> gr. <i>obtus</i>	"	3	1410	4	35	16	96	0	2	1
<i>Pterocladia capillacea</i>	winter	4	156	0	1	0	99	0	1	0
<i>Ulva</i> sp.	"	1	109	0	5	34	74	0	4	23
<i>Risoella verruculosa</i>	"	1	0	0	0	0				
<i>Jania corniculata</i>	"	4	242	5	2	124	65	1	0	33
<i>Pterocladia capillacea</i>	"	3	133	1	1	39	76	1	1	23
<i>Ceramium ciliatum</i>	spring	3	74147	4681	55	11190	82	5	0	12
<i>Dictyopteria membranacea</i>	"	3	47976	9557	238	16529	65	13	0	22
<i>Laurencia</i> gr. <i>obtus</i>	"	3	134512	11801	130	6740	88	8	0	4
<i>Peyssonnelia squamaria</i>	"	3	4209	1030	46	2354	55	13	1	31
<i>Padina pavonica</i>	"	2	56404	33825	481	25475	49	29	0	22

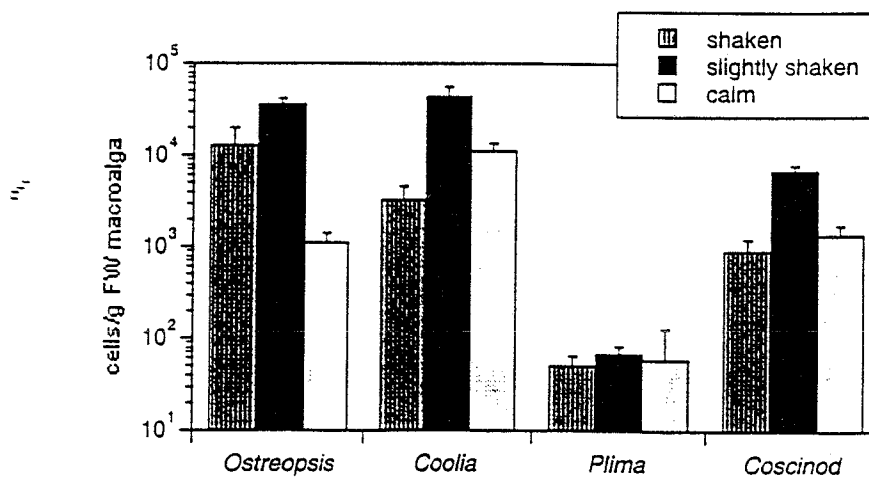


Fig 5. Epiphytic averaged densities (*Ostreopsis* sp., *C. monotis*, *P. lima* and *Coscinodiscus*) on *Corallina elongata* in three hydrodynamic regimes (shaken, slightly shaken and calm). Samples taken in the sampling station in April 1998 (when cell densities where high, see arrow in Fig 4b)

Epiphytic dinoflagellates in the Mediterranean Sea

Table II. Epiphytic community composition in macroalgae from other stations in the NW Mediterranean. (-: absent; +: present; ++: low abundant; +++: high abundant; ++++: very abundant; * other diatoms than *Coscinodiscus*)

Macroalgae	station	Abundance (cells·g ⁻¹ FW)				Relative abundance (%)			
		Os	Co	Pl	Cs	Os	Co	Pl	Cs
<u>Catalonia, summer 1997 and 1998</u>									
Phaeophyceae									
<i>Dictyota dichotoma</i>	1	312	37	73	0	74	9	17	0
<i>Dictyota dichotoma</i>	2	228	2151	554	196	7	69	18	6
<i>Halopteris scoparia</i>	2	0	63	98	0	0	39	61	0
<i>Dilophus fasciola</i>	3	414	61	97	170	56	8	13	23
<i>Halopteris scoparia</i>	3	10	10	105	0	8	8	85	0
<i>Halopteris scoparia</i>	4	0	0	0	1	0	0	0	100
<i>Dictyota dichotoma</i>	5	0	104	367	389	0	12	43	45
<i>Dictyota dichotoma</i>	6	17939	76	284	132	97	0	2	1
<i>Halopteris scoparia</i>	6	7	0	20	0	25	0	75	0
<i>Dictyota dichotoma</i>	8	159	26	53	160	40	7	13	40
<i>Halopteris scoparia</i>	8	282	0	311	256	33	0	37	30
<i>Dilophus fasciola</i>	9	0	342	683	506	0	22	45	33
<i>Dilophus fasciola</i>	10	10917	363	60	30	96	3	1	0
<i>Dictyota dichotoma</i>	11	21	10	7573	2195	0	0	77	22
<i>Halopteris scoparia</i>	11	129	39	741	107	13	4	73	11
<i>Dictyota dichotoma</i>	12	0	40	71	0	0	36	64	0
<i>Dictyota dichotoma</i>	13	6	18	0	0	26	74	0	0
<i>Dictyota dichotoma</i>	14	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhodophyta									
<i>Corallina elongata</i>	1	0	0	7	0	0	0	100	0
<i>Corallina elongata</i>	2	4	59	28	4	4	63	29	4
<i>Corallina elongata</i>	3	25	18	55	0	25	19	56	0
<i>Corallina elongata</i>	4	0	36	7	58	0	36	7	57
<i>Corallina elongata</i>	5	0	0	2	1	11	0	56	33
<i>Corallina elongata</i>	6	77136	1322	1542	331	96	2	2	0
<i>Jania + Corallina</i>	9	24	416	559	309	2	32	43	24
<i>Jania corniculata</i>	10	6543	239	84	6	95	3	1	0
<i>Corallina elongata</i>	11	1090	88	651	158	55	4	33	8
<i>Corallina elongata</i>	12	0	3	0	0	0	100	0	0
<i>Corallina elongata</i>	14	103	0	6	0	94	0	6	0
<u>Majorca, summer 2000</u>									
Phaeophyceae									
<i>Halopteris scoparia</i>	15	-	-	+	++				
<i>Dictyopteris membranacea</i>	15	++++	++	+	+				
<i>Dilophus fasciola</i>	15	+++	++	++	-				
<i>Padina pavonica</i>	15	++++	++	++	++				
<i>Halopteris scoparia</i>	16	+++	-	+	++++				
<i>Halopteris scoparia</i>	17	-	-	+	-				
<i>Dictiocha + Dilophus</i>	17	++	+	+	+				
<u>Corsica, summer 1998</u>									
Phaeophyceae + Rhodophyta									
Mixed sample	18	++	-	-	-				other diatoms*
(Corallina, Jania, Dictiocha, Halopteris..)									

Results of cell abundances are shown from broader sampling area along Costa Brava in Table II. The epiphytic community (four microalgal species enumerated) is shown on various macroalgae. Dinoflagellates densities were found most abundant at stations 6-11 (which are the nearest to the sampled site, Fig. 1). A similar community (in dinoflagellates and diatoms) was found in Majorca, in contrast with Corsica, where the community was dominated by diatoms and *Ostreopsis* sp. was a minor component.

Discussion

The epiphytic dinoflagellate community in the Mediterranean: comparison with other places

This is not the first report of the genus *Ostreopsis* in the Mediterranean Sea. Taylor (1979) described an association of *Ostreopsis siamensis*, *Coolia monotis*, *Oxyrrhis marina* and *Amphidinium* sp. in the NW Mediterranean (Vilefranche-sur-Mer). The occurrence of *Ostreopsis ovata* in the water column was also documented in the Thyrrenian Sea (Tognetto *et al.* 1995). Moreover, low cell concentrations of *Ostreopsis cf. siamensis* ($< 200 \text{ cells}\cdot\text{L}^{-1}$) have been recorded in Andalusia (Mamán *et al.* 2000) and Catalonia (Vila *et al.* 2001a, veigeu Capítol 1). An association dominated by *Coolia monotis* and low concentrations of *Ostreopsis* sp. was reported in other Mediterranean localities (Ganzirri Lagoon, Sicily) (Gangemi 2001). However, long term epiphytic associations had not been quantified in the Mediterranean Sea. In this study, the epiphytic microscopic community mentioned in the previous section was also detected in samples from Majorca and Corsica. Thus, this community is probably common in the NW Mediterranean Sea.

A similar association, consisting of *Ostreopsis siamensis*, *O. lenticularis*, *O. ovata*, *Prorocentrum lima*, *P. compressum* and *Coolia monotis*, has been recorded in northern New Zealand. The dominant species, *O. siamensis* accounted for 64-85% of the total epiphytic flora during summer (Chang *et al.* 2000). Although *Gambierdiscus toxicus* and *O. lenticularis* are co-dominant in many tropical regions (Bagins *et al.* 1985, Carlson and Tindall 1985, Gillespie *et al.* 1985), *G. toxicus* has been recorded only once (and in extremely low concentrations) in northern New Zealand (Chang *et al.* 2000) and never on the Catalan coast. There may be a latitudinal gradient that implies different species composition within the benthic association. What is certain is that these epiphytic assemblages are not restricted only to tropical and subtropical waters but are present in temperate water as well.

The epiphytic/benthic dinoflagellates from New Zealand seem to be associated with the lipid-soluble toxins detected in shellfish from the studied area. However, the link relation between toxins and the presence of *O. siamensis* is not yet clear (Chang *et al.* 2000). The epiphytic community toxicity in Catalonia had been tested injecting the extract (i.p. injection) to mice. The organic fraction was not toxic, whereas the water-soluble fraction killed the mice in 20 min. The symptoms observed on mice were not PSP symptoms. Instead, they were reminiscent of neurotoxic symptoms (E. Cacho, personal communication). Signs of PSP were neither detected by HPLC analysis (JM. Franco, personal communication). Our preliminary results suggest that the toxin is present in the water-soluble fraction, in disagreement with the study carried out in New Zealand and in agreement with Tindall *et al.* (1990), who identified a water-soluble toxin very similar to maitotoxin (ostreotoxin), in *O. lenticularis*. However, the specific toxicity of the Mediterranean epiphytic community requires further research.

Preferred habitat and seasonal variability

Dinoflagellates in this study were epiphytic on macroalgae, and low densities were detected in the water column and in/on the sediments. Numerous species of macroalgae host significant numbers of epiphytic dinoflagellates. They include members of Rodophyta, Phaeophyta, Chlorophyta and Cyanophyta (Tindall and Morton 1998). The macroalgae tested in this study, which correspond mainly to Rodophyta and Phaeophyta, supported high densities of epiphytic dinoflagellates. The highest density detected for *Ostreopsis* sp. in this study was 5.9×10^5 cells·g⁻¹ FW in *Halopteris scoparia* on July 1997. To our knowledge, this is one of the highest densities of epiphytic species ever reported. For example, the highest density of *Ostreopsis lenticularis* was estimated as 2.35×10^5 cells·g⁻¹ FW on the macroalga *Dictyota* at Laurel Reef, Puerto Rico (Ballantine *et al.* 1985), and *Gambierdiscus toxicus* as 5.0×10^5 cells·g⁻¹ FW on *Jania* in a Gambier Island reef (Yasumoto *et al.* 1980). At Virgin Islands, *Coolia monotis* achieved 1.2×10^6 cells·g⁻¹ FW macroalga, and *Prorocentrum mexicanum* achieved 1.5×10^6 cells·g⁻¹ FW macroalga (Carlson and Tindall 1985). However, the maximum densities for epiphytic species commonly range from 10^2 to 10^4 cells·g⁻¹ FW macroalgae (Tindall and Morton 1998). Significant differences in epiphytic densities between macroalgae were not detected in this study, in agreement with Tindall and Morton (1998), who stated that epiphytic dinoflagellates preferred three-dimensional, flexible, high-surface area algae, like the macroalgae sampled in this study, rather than a particular macroalgal species or phylum.

Cell densities around $10\text{-}20 \times 10^3 \text{ cell}\cdot\text{L}^{-1}$ were sometimes recorded during warm months in the water column at the sampling site (station 7). However, bloom concentrations of *Ostreopsis* were never detected in the water column and *Ostreopsis* was very scarce on the sediment. The positive and significant correlation between *Ostreopsis* sp. concentrations in the water column and sediment with those on macroalgae probably indicates that the former were resuspended or released from the surface of macroalgae. The presence of *Ostreopsis* sp. in the water column on the Catalan coast is well documented since the beginning of the routine monitoring in 1995 (Vila *et al.* 2001a, veigeu Capítol 1). *Ostreopsis* sp. in the water column has occasionally been detected, but in cell densities lower than $100 \text{ cells}\cdot\text{L}^{-1}$. High densities of *Ostreopsis* sp. were only observed in Garraf harbour ($5\text{-}78 \times 10^3 \text{ cells}\cdot\text{L}^{-1}$), during autumn 1997, concomitant with wretched macroalgae that were floating during the sampling days and in Blanes harbour ($98 \times 10^3 \text{ cells}\cdot\text{L}^{-1}$) on October 27 1997, after a heavy storm. Thus, the preferred habitat of *Ostreopsis* sp. on the Catalan sea is epiphytic on macroalgae. In coral reef areas of the Virgin Islands, these organisms were mostly associated with macroalgae located between 0.5 and 3 m, but macroalgae attached to mangrove roots and dead coral pavement did not support high numbers of dinoflagellates (Carlson and Tindall 1985). In contrast, dead corals colonized by algal turf to various extents showed higher epiphytic dinoflagellate densities than macroalgal substrates in Mayotte Island (SW Indian Ocean) (Grzebyk *et al.* 1994; Quod 1994).

The dinoflagellate assemblage on macroalgae follows a clear seasonal pattern in response to several factors, probably the same factors that trigger spring growth of macroalgae in the area (Ballesteros 1992): increase in temperature and irradiance at the beginning of spring, calmer sea (the spatial variability due to hydrodynamic regimes is significant) and availability of substrate. No significant correlations were observed between epiphytic organisms and water temperature or nutrients. Gillespie *et al.* (1985) showed that periodicity in the densities of *G. toxicus* was not directly linked to temperature. They found the maximum density in water at temperatures near 20°C , and before the maximum temperature occurred. Here, no clear seasonal pattern on the relative abundance of epiphytic organisms was observed (e.g. substitution of dinoflagellates vs. diatoms). The dominant dinoflagellate was mostly *Ostreopsis* sp., although *C. monotis* and *P. lima* occasionally achieved high absolute and relative numbers. The mechanisms that trigger species abundance are unclear, but changes in

the hydrodynamic regime may be involved. Spatial variability (Fig. 5) indicates that although *C. monotis* and *Ostreopsis* sp. are better adapted to slightly shaken environments, *C. monotis* outnumbers *Ostreopsis* sp. in calm waters, but the former is excluded by *Ostreopsis* sp. in shaken waters.

In autumn, the input of external energy from storms and rains exert a negative effect upon the macroalgae, which simplify the macroalgal community structure and reduce the biomass (Ballesteros 1992). These conditions may also affect all epiphytic organisms. Differences in cell concentration during warm/cold months may also result from the “carrying capacity” of macroalgae (Lobel *et al.* 1988), which varies according to hydrodynamic characteristics (Tindall and Morton 1998). Each species of macroalga has a characteristic surface area or space, which once occupied, can support no additional cells. In high turbulence conditions, this space is limited to the surface layer, whereas in stagnant conditions dinoflagellates multiply to fill all the spaces within the macroalgal canopy. In highly turbulent conditions, when no additional cells can be supported by macroalgae, dinoflagellates continuously migrate to adjacent areas. Bomber *et al.* (1989) suggested that the presence of *Prorocentrum* spp., *C. monotis* and *O. siamensis* in the water column is due to vertical migration, which facilitates cell redistribution and concentration. Thus, the epiflora does not strictly depend on a given macroalga, because under certain circumstances (e.g. macroalga death) they can migrate and colonise other algae.

The high cell concentrations recorded during summer for the 4 target macroalgae are attributed to the meddium shaken and more stable water environments, similar to the Type II system described by Tindall and Morton (1998). On the other hand, the low cell concentrations recorded during winter months, which are probably associated with more shaken fluxes, can be compared with the Type I system.

In conclusion, the epiphytic associations of *Ostreopsis* sp., *Coolia monotis*, *Prorocentrum lima* and *Coscinodiscus* sp. are characteristic along the Catalan coast, NW Mediterranean. Further research in other areas of the Mediterranean Sea is required to define the spatial distribution and to determine whether such association exists.

CAPÍTOL 5

Garcés E, Vila M, Masó M, Moragues M, Arin L, Camp J. Temporal and spatial distribution of the species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in Catalan coastal waters, NE Spain (Mediterranean Sea). *Sci Mar* (submitted)

Capítol 5

Temporal and spatial distribution of the species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in Catalan coastal waters (NW Mediterranean Sea)

Abstract

A taxonomic study of potentially toxic *Pseudo-nitzschia* species present in Catalan coastal waters (NW Mediterranean Sea) was carried out using light and scanning electron microscopy. *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *P. delicatissima*, and *P. pungens* were identified and their temporal and spatial distribution along the coastline of Catalonia is described. Throughout the study period, maximum abundance of *Pseudo-nitzschia* species was observed during seasonal changes of surface water temperature, when values increased from 19 to 24°C (April to May) and decreased from 24 to 19°C (October). *P. pseudodelicatissima* exhibited a distinct seasonal pattern of abundance along this coastline, peaking (10^6 cells·L⁻¹) during the seasonal changes of surface water temperature. Although maximum abundance were observed in spring and autumn, isolated situations of high concentration were observed during the summer in the southern area. *P. delicatissima* was observed in different stations in October. *Pseudo-nitzschia pungens* was observed in the samples of December from the northern stations. During the periods of highest abundance of *Pseudo-nitzschia* spp., the water was characterised as warm, with a wide range of salinity and nutrient concentration.

A Principal Component Analysis (PCA) was performed to analyze the phytoplankton assemblages in relationship with the genus *Pseudo-nitzschia*. The phytoplankton community accompanying the genus was always different and varied in relationship with the seasonality. *P. pseudodelicatissima* appears together with a community of dinoflagellates during spring-summer, alone in autumn and mixed with *P. delicatissima* and other diatoms during July-September. Although these species have been reported to produce Domoic Acid, no toxic events were associated to molluscan shellfish samples from the Catalan coast.

Introduction

Species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* are common in the marine phytoplankton throughout the world and can reach high concentrations in coastal waters. Some species of this genus are sources of domoic acid (DA), which causes Amnesic Shellfish Poisoning (ASP) in humans and possible mass mortalities in sea birds and mammals. The production of DA is reported for at least nine species of the genus *Pseudo-nitzschia* (Bates *et al.* 1998; Bates 2000).

Species of this genus have been implicated in outbreaks of DA toxicity in the Mediterranean (Sarno and Dahlmann, 2000), and since 1998 DA has been detected in shellfish from the Atlantic and Mediterranean coasts of France, related to the species *P. pseudodelicatissima* and *P. multiseriata* (Amzil *et al.* 2001). This led us to study the occurrence and abundance of these species along the coast of Catalonia, NE Spain. The diatom genus *Pseudo-nitzschia* has been recorded close to the shore (bays, estuaries, harbours) (Vila *et al.* 2000) along the whole of this coastline, although its composition and distribution are not clear because it has often been identified only to the genus level. The identification of *Pseudo-nitzschia* at the species level is not always possible in light microscopy and often SEM (Scanning Electron Microscopy) and/or TEM (Transmission Electron Microscopy) are required to distinguish valve view.

Because there is still a lack of field data to interpret *Pseudo-nitzschia* blooms, here we aim to study aspects of the temporal and spatial distribution of this genus by examining plankton samples from the NW Mediterranean coast. Moreover, the composition of the phytoplankton community accompanying *Pseudo-nitzschia* blooms is described. Often has been criticised to limit phytoplankton monitoring to only one or a few species of interest because it may impair efforts to find useful regularities in the variability of the populations. It has been suggested that the consideration of all groups of phytoplankton may detect recurrent patterns in the communities at particular places or times.

Materials and Methods

Catalonia is situated in the NW Mediterranean Sea (NE Spain) and has a coastline of 400 km (lat 40,5°-42,5° N; long 0,2°-3,2° E), parts of which are highly populated. The main rivers in

the area are the Ter ($6\text{-}20\text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$) in the north, the Llobregat ($14\text{-}30\text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$) and the Besòs ($2.6\text{-}7.2\text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$) rivers on the central coast, and the Ebre river ($130\text{-}630\text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$) in the south. There are many harbours along this coast, on average one harbour at every 10 km of coast. The 16 sampling stations were located in semi-enclosed waters (Fig. 1), and were sampled weekly from May to September in 8 harbours (Roses, Estartit, Arenys, Barcelona, Vilanova, Tarragona, Ametlla, St. Carles) and bimonthly in the other 8 harbours (Ampuriabrava, Palamós, Blanes, Premià, Olímpic, Torredembarra, Cambrils, Ampolla). The remaining year it was sampled biweekly at 6 harbours (Estartit, Arenys, Olímpic, Barcelona, Tarragona, St. Carles) and monthly at 10 (Roses, Ampuriabrava, Palamós, Blanes, Premià, Vilanova, Torredembarra, Cambrils, Ametlla, Ampolla).

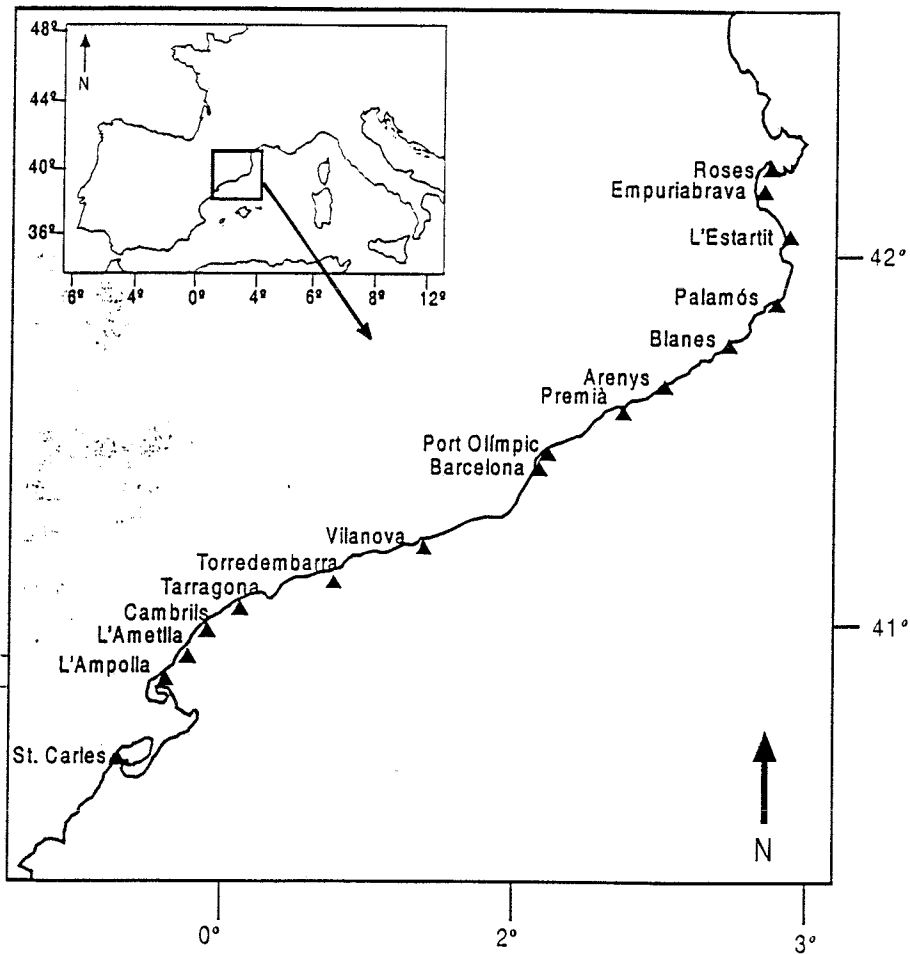


Fig. 1. Location of harbours studied in the Phytoplankton Monitoring Programme; inset geographical location of Catalonia.

Bucket samples were taken at the surface during daylight hours. Samples of 150ml were preserved with Lugol's iodine solution. A 50-ml aliquot was settled in counting chambers for one day. For phytoplankton enumeration, an appropriate area of the chamber was scanned at 200-400X magnification using a Leica-Leitz DM-II inverted microscope according to Thronsen (1995). Standard hydrographic data were collected at these stations. In addition, samples of water were taken and frozen immediately for nutrient analysis. Nutrients were determined by automated analysis, as described in Grasshoff *et al.* (1983).

In the whole stations the genus *Pseudo-nitzschia* was counted, and in a selection of stations and samples the whole phytoplankton community composition was checked. Thus, monthly samples from Palamós, Arenys and Barcelona were analysed for the phytoplankton community composition, and the whole samples from St. Carles (one of the sites where peak abundance of *Pseudo-nitzschia* occurred frequently). The phytoplankton community was identified at a species or genus level when possible, according to Steidinger and Tangen (1997), Hasle and Syvertsen (1997). To classify *Pseudo-nitzschia* species, water and net plankton from distinct samplings and seasons (see figure 3) were analysed with a combination of light and scanning electron microscopy (SEM). Organic material was removed (acid cleaned) (Hasle and Fryxell, 1970) from samples and then were mounted on stubs with colloidal silver and sputter coated with 20 nm of gold. They were then observed with a scanning electron microscope (Hitachi S-570) operating at 10 kV. Unfortunately when blooms of different species appeared mixed we were not able to quantify the relative proportion of species because most of cells appeared broken. To do a correct identification it is necessary look at the central interspace, the extremes and the shape of the whole cell.

A Principal Component Analysis (PCA) was performed (StatSoft 1996) to analyze the phytoplankton assemblages in relationship with the genus *Pseudo-nitzschia* at St. Carles. The PCA has been performed based in 36 samples (2-4 per month) and 34 species. Taxa were selected according to their frequency of appearance in the samples (>10%). During 2000, the genus *Pseudo-nitzschia* was scarce in the other harbours where the whole phytoplankton community composition was counted (Palamós, Arenys and Barcelona), thus no multivariate analysis was performed.

Results

Taxonomy

Three species of *Pseudo-nitzschia* have been identified *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *P. delicatissima* and *P. pungens* according to Skov *et al.* 1999. The morphometric characteristics are given in Table I, and scanning electron microphotographs are shown in Fig. 2.

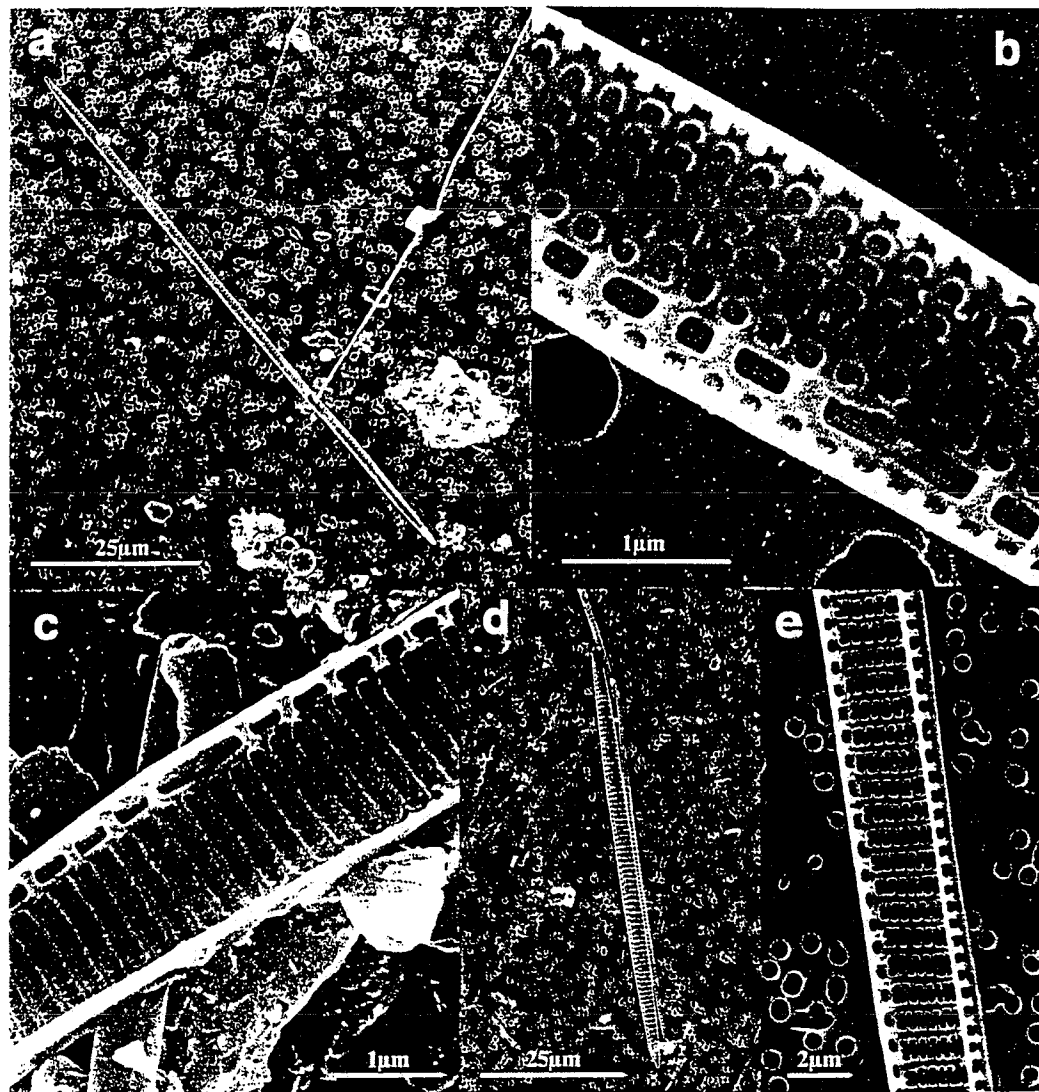


Fig. 2. a) *P. pseudodelicatissima* from a 20µm mesh net haul, November 14, 2000, St. Carles. b) *P. pseudodelicatissima* inside view of single valve October 2, 2000, St. Carles. Note the central interspace. c) *P. delicatissima* inside view, October 2, 2000, St. Carles. Note the central interspace and the two rows of small poroids between more heavily silicified interstriae. d) *P. pungens* whole cell December 13, 2000, Palamós. e) *P. pungens* inside view of the valve. Note the two rows of large poroids.

Table I. Summary of morphometric characteristics of *Pseudo-nitzschia* spp. in coastal waters of Catalonia. Minimum and maximum measurements are shown. *Pseudo-nitzschia* species are identified after Hasle *et al.* 1996 and Skov *et al.* 1999.

Station	Date	Width (μm)	Rows	Poroid	Interstriae in 10 μm	Fibulae in 10 μm	Central	Taxon
		Min-Max	of poroids	in 1 μm	Min-Max	Min-Max	interspace	
Estartit	2 Apr 00	1.5-1.9	1	3-4	36-42	18-21	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
Ampolla	28 Apr 00	1.5	1	4	40	16	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
St. Carles	7 May 00	1.6	1	4	40	21	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
Ampolla	14 May 00	1.5-2	1	4-5	40	18	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
L'Atmetlla	15 May 00	1.5-2	1	4	36-40	16-18	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
Fosca	22 Jun 00	0.98-1.3	1	6	42-48	20-26	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
Premià	2 Oct 00	1.1	2	10	46	24	+	<i>P. delicatissima</i>
St. Carles	2 Oct 00	1.6-1.8	1	3	32-38	16	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
St. Carles	2 Oct 00	1.7	2	8	38	18	+	<i>P. delicatissima</i>
Tarragona	9 Oct 00	1.8		4	36-44	20-26	Not observed	<i>P. cf. pseudodelicatissima</i>
St. Carles	14 Nov 00	1.6-1.8	1	4	38-46	16-26	+	<i>P. pseudodelicatissima</i>
Masnou	27 Nov 00	1.6	1	4	40	26	Not observed	<i>P. cf. pseudodelicatissima</i>
Palamós	13 Dec 00	3-3.2	2	3	11-12	12-14	-	<i>P. pungens</i>

Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima was the species most commonly recorded and was widely distributed along the coast, the other two species appeared occasionally (Table I). The dominant species, *P. pseudodelicatissima*, ranged from 68 to 96 μm in length, and 0.98 to 2 μm in valve width ($n=25$). It had 32 to 48 interstriae and 16 to 26 fibulae per 10 μm , and 1 row of poroids, 4-6 transversely in 1 μm . A central interspace was present. The cribrum (a perforated membrane covering the poroids) often resembled a flower (Fig. 2).

Abundance, distribution and community structure

The spatio-temporal distribution pattern of the genus *Pseudo-nitzschia* is showed in Fig. 3, where the samples for SEM observations are indicated. *P. pseudodelicatissima* exhibited a distinct seasonal pattern of abundance, peaking (10^6 cells $\cdot\text{L}^{-1}$) during the seasonal changes of surface water temperature, when values increase from 19 to 24°C (April to May) and decreased from 24 to 19°C (October). Although maximum abundance (mean 10^4 cell $\cdot\text{L}^{-1}$; maximum 10^6 cell $\cdot\text{L}^{-1}$) were observed in spring and autumn, isolated situations of high concentration were observed during summer in the southern area. *P. delicatissima* was observed in different stations in October, and *P. pungens* was observed in the samples of December from the northern stations (Fig. 3 and Table I).

During the periods of highest abundance of the genus *Pseudo-nitzschia*, the water was characterised as warm, with a wide range of salinity (Fig. 4). Correlation analyses among temperature, salinity yielded no significant correlation. The trophic conditions within the sampled stations and along the annual cycle were very variable. In Table II are presented the main statistics. Nevertheless, high abundance of *Pseudo-nitzschia* never occurred in conditions when silicate was potentially limiting (Fig. 5).

Pseudo-nitzschia spp. is a common component of the micro-phytoplankton in the Ebre region (St. Carles-L'Atmella-L'Ampolla) (Fig. 3). The relative abundance of *Pseudo-nitzschia* (Table III) was high at stations such as St. Carles and Palamós, and accounted for up to 80-100% of total diatoms. In contrast, the relative abundance of this genus at other stations was not significant (e.g. Arenys and Barcelona harbours). Although correlation analyses between salinity and *Pseudo-nitzschia* cell numbers along the coastline yielded no significant correlation, *P. pseudodelicatissima* was negatively correlated with salinity ($r = -0.33$, $p < 0.05$) in samples from the Ebre region, St. Carles-L'Atmella-L'Ampolla) ($r = -0.69$, $p < 0.05$).

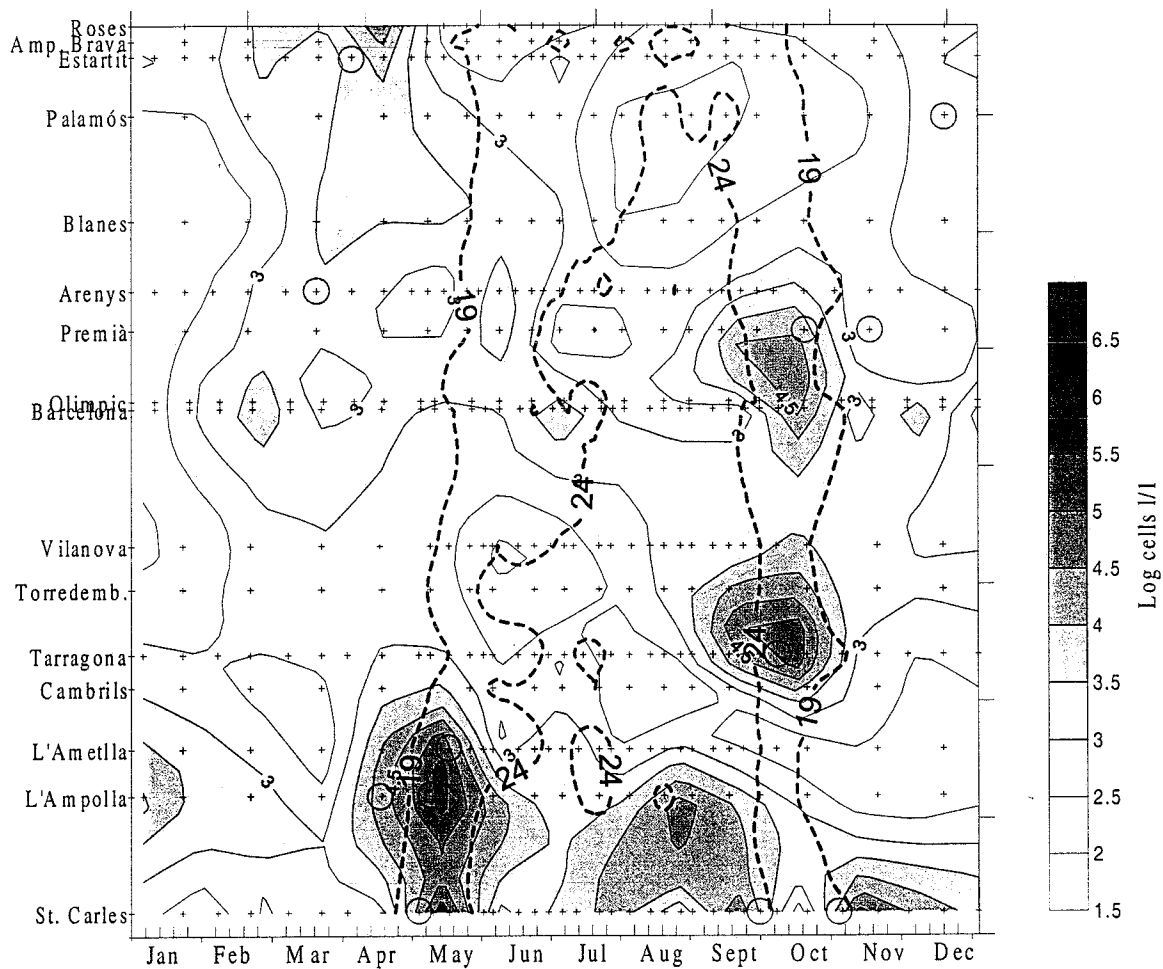


Fig. 3. Seasonal change in the concentration of *Pseudo-nitzschia* spp. cells (solid lines; scale bar at right) and temperature isolines (dashed lines, showing 19–24°C). Circles are the samples for the identification of *Pseudo-nitzschia* at the species level in SEM (Scanning Electron Microscopy).

Table II. Main statistics though an anual cycle (year 2000) of temperature, salinity and trophic conditions, such as concentration of major inorganic nutrients (μM) (number of stations sampled in each region, average, maximum, minimum and Std Deviation) and atomic ratios in the Catalan harbour's waters. The area is divided into four regions: northern region where *Pseudo-nitzschia* appears before spring; central region and south region where *Pseudo-nitzschia* appears in autumn; and Ebre where *Pseudo-nitzschia* appears all year round. (n= number of stations sampled in each region).

		N	Mean	Minimum	Maximum	Std. Dev.
North (n=5)	TEMP °C	61	18.3	10.3	24.3	4.1
	Salinity	61	37.0	34.4	38.1	0.7
	NO ₃	27	3.7	0.3	16.8	4.5
	NO ₂	27	0.2	0.1	0.6	0.2
	NH ₄	27	2.8	0.7	9.2	2.0
	PO ₄	27	0.4	0.0	0.9	0.2
	DIN	27	6.8	1.3	21.1	5.2
	SiO ₄	27	3.2	0.4	9.0	2.1
	SiO ₄ /PO ₄	27	12.7	1.6	69.0	14.3
	SiO ₄ /DIN	27	0.6	0.1	1.9	0.4
Central (n=4)	DIN/PO ₄	27	24.8	3.9	93.7	25.0
	TEMP °C	60	19.9	10.8	28.0	4.8
	Salinity	60	36.2	28.6	38.1	2.3
	NO ₃	23	98.1	0.5	627.6	175.2
	NO ₂	24	0.4	0.1	1.3	0.3
	NH ₄	24	4.3	0.2	25.5	5.2
	PO ₄	24	0.9	0.1	5.4	1.1
	DIN	23	102.9	1.0	636.2	178.6
	SiO ₄	24	14.2	0.7	65.1	17.3
	SiO ₄ /PO ₄	24	21.9	1.4	91.5	24.4
South (n=4)	SiO ₄ /DIN	23	0.4	0.0	1.9	0.4
	DIN/PO ₄	23	109.0	5.2	775.9	174.8
	TEMP °C	32	20.3	9.9	27.5	5.6
	Salinity	32	36.9	32.8	38.0	1.0
	NO ₃	12	4.5	0.7	15.0	4.2
	NO ₂	12	0.3	0.1	0.5	0.2
	NH ₄	12	2.7	0.6	5.8	1.7
	PO ₄	12	0.4	0.1	1.0	0.2
	DIN	12	7.5	2.1	21.4	5.4
	SiO ₄	12	2.8	0.8	8.4	2.4
Ebre (n=3)	SiO ₄ /PO ₄	12	10.3	2.1	27.2	8.7
	SiO ₄ /DIN	12	0.4	0.1	0.9	0.3
	DIN/PO ₄	12	25.7	4.7	80.5	19.8
	TEMP °C	57	21.7	10.2	28.9	5.3
	Salinity	56	34.2	25.1	37.8	2.8
	NO ₃	20	14.3	1.1	42.0	13.1
	NO ₂	20	0.4	0.2	1.0	0.2
	NH ₄	20	2.5	0.5	5.0	1.2
	PO ₄	20	0.3	0.0	0.5	0.1
	DIN	20	17.3	3.5	45.4	13.0
	SiO ₄	20	7.8	0.8	28.8	6.2
	SiO ₄ /PO ₄	20	81.6	1.7	960.7	209.1
	SiO ₄ /DIN	20	0.6	0.1	3.2	0.7
	DIN/PO ₄	20	109.8	7.4	543.5	130.8

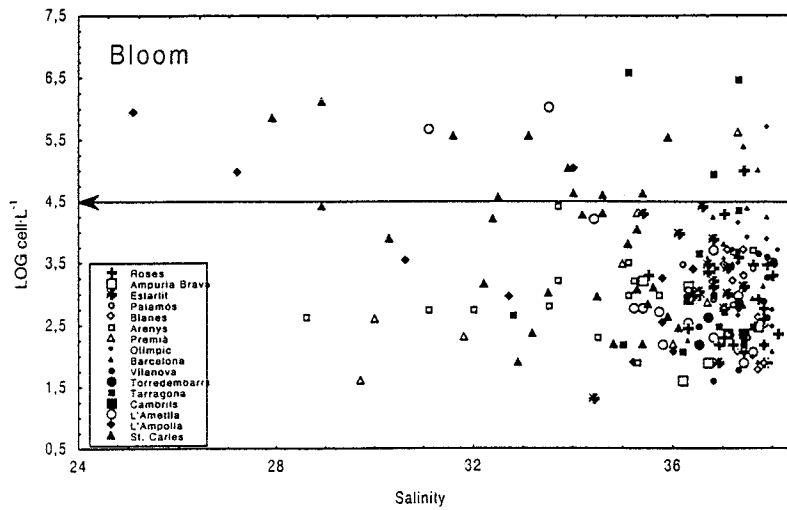


Fig. 4. Scatter plot of salinity vs. concentration of *Pseudo-nitzschia* spp. cells at the different sampling stations. Cellular densities of *Pseudo-nitzschia* spp. ($>10\,000\text{ cells}\cdot\text{L}^{-1}$) are indicated with the arrow.

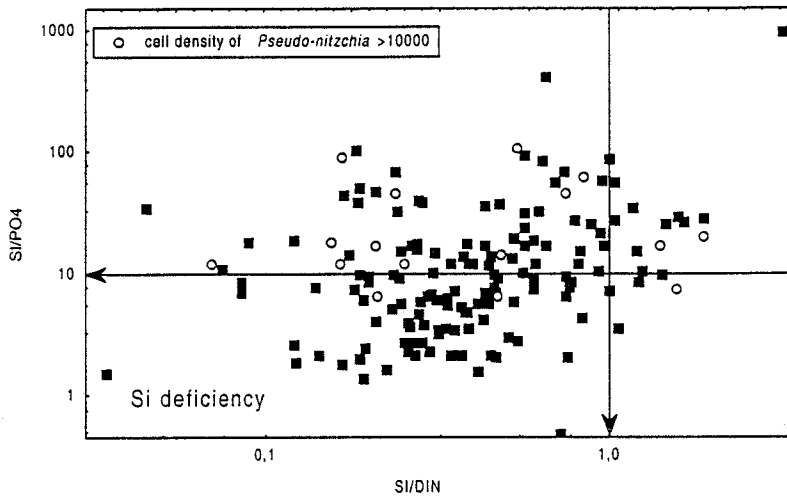


Fig. 5. Dispersion diagram showing the quadrant of potential limitation of silicate (arrows indicate nutrient limitation: $\text{Si}:\text{DIN} < 1$ and $\text{Si}:\text{PO}_4 < 10$, Justic *et al.* 1995). High cellular densities of *Pseudo-nitzschia* spp. ($>10\,000\text{ cells}\cdot\text{L}^{-1}$) are indicated at open circles.

Table III. Abundance of *Pseudo-nitzschia* relative to total diatoms (dia), dinoflagellates (din) and nanoflagellates (nano).

Station		n	% Mean \pm Std. Dev.	% Maximum
Palamós	<i>Pseudo-nitzschia</i> /diatoms	12	26 \pm 28	80
	<i>Pseudo-nitzschia</i> /din+dia+nano	12	6 \pm 16	57
Arenys	<i>Pseudo-nitzschia</i> /diatoms	13	5 \pm 7	19
	<i>Pseudo-nitzschia</i> /din+dia+nano	13	<1	1
BCN	<i>Pseudo-nitzschia</i> /diatoms	13	<1	1
	<i>Pseudo-nitzschia</i> /din+dia+nano	13	<1	<1
St. Carles	<i>Pseudo-nitzschia</i> /diatoms	36	30 \pm 35	100
	<i>Pseudo-nitzschia</i> /din+dia+nano	36	4 \pm 9	44

Data from St. Carles showed a continuously presence of *Pseudo-nitzschia* showing three periods of abundance during the year (spring, summer and autumn, with maximal densities of 10^6 cells·L⁻¹). The results of the PCA analysis indicated a high seasonal component of the phytoplankton community. Since the genus *Pseudo-nitzschia* is present year round and can be a mixture of different species that analysis didn't showed any clear result. Since it has been suggested that it would be reasonable to look for different species of *Pseudo-nitzschia* during different seasons (Fryxell *et al.* 1997) we decided to make four groups artificially (Pseu1 – Pseu4), according with the peaks of abundance (Fig. 6). The first three axes of that second PCA performed explained 39,3% of the total variance (f1=17%, f2=12,9% and f3=9,3%). The statistics of the taxa used in the multivariate analysis are given in Table IV. The plot of species- according their correlation coefficients with the two first axes shows clearly the seasonal pattern (Fig. 7 and table V). Four groups could be distinguished. The group Pseu1 appears together with *G. corsicum*, species that only appears at this station (St. Carles) and during winter months (Garcés *et al.* 1999a; Vila *et al.* 2001a, veigeu Capítol 1). The spring-early summer group is comprised mainly by dinoflagellates that blooms during these months as *Scrippsiella* spp., *Dinophysis sacculus*, *Prorocentrum micans*, *P. minimum*, *Alexandrium minutum*, *P. triestinum*, the group Pseu2, the diatom *Proboscia alata* and the flagellate *Eutreptiella* sp. These species were positively correlated with the first factor. A third group, the end summer-early autumn group included several diatoms such as the group Pseu3,

Thalassionema nitzschioides, *Thalassiothrix mediterranea* (= *Lioloma pacificum*), *Rhizosolenia stolterfothi* (= *Guinardia striata*), *Coscinodiscus* sp., the dinoflagellates *Protoperidinium quinquecorne*, *Gymnodinium* spp. and the ciliate *Mesodinium* cf. *rubrum*. All of these species were positively correlated with the second factor. Finally, in the group Pseu4, *Pseudo-nitzschia* appears and also blooms practically as the only component of the group during autumn, when the phytoplankton community is very poor. Pseu4 was negatively correlated with the second factor. From Table I and figure 3 we can assimilate the blooms of Pseu2 and Pseu4 to *P. pseudodelicatissima*, and Pseu3 as a mixing of *P. pseudodelicatissima* and *P. delicatissima*.

Table IV. Statistics of the taxa used in the multivariate analysis. Np: number of presences; Avg.: averaged concentration in cells·L⁻¹; SE: standard error. Codes gives the key for the names used in Table V and figure 6.

Taxon	Code	Np	Avg.	SE	Max.
DINOFLAGELLATES					
<i>Alexandrium minutum</i>	AMIN	11	893	547	19110
<i>Ceratium furca</i>	CFUR	13	25	9	280
<i>Ceratium fusus</i>	CFUS	5	4	2	40
<i>Dinophysis sacculus</i>	DSAC	27	631	225	6240
<i>Gyrodinium corsicum</i>	GCOR	11	33045	24831	871691
<i>Gymnodinium</i> spp.	GYMN	5	240	192	6825
<i>Gyrodinium</i> spp.	GYRO	6	117	71	1820
<i>Protoperidinium diabolium</i>	PDIAB	4	11	7	240
<i>Prorocentrum micans</i>	PMIC	26	2601	730	18655
<i>Prorocentrum minimum</i>	PMIN	24	2841	1415	50960
<i>Protoperidinium quinquecorne</i>	PQIN	23	25879	15525	526312
Big <i>Protoperidinium</i> spp.	PRTG	10	70	35	910
Small <i>Protoperidinium</i> spp.	PRTP	17	615	189	4550
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	PSEU	32	99649	43879	1348654
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	PSEU1	4	783	732	26361
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	PSEU2	9	48749	38502	1348654
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	PSEU3	13	26862	14153	378281
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	PSEU4	6	23255	20538	740115
<i>Prorocentrum triestinum</i>	PTRI	28	2812687	2701110	97284005
<i>Scrippsiella</i> spp.	SCRI	25	8035	2894	80080
DIATOMS					
<i>Coscinodiscus</i> spp.	COSC	4	6	4	120
<i>Cerataulina pelagica</i>	CPEL	6	638	461	16362
Big <i>Chaetoceros</i> spp.	CHG	17	20969	8542	253435
Small <i>Chaetoceros</i> spp.	CHP	11	66343	32167	746694
Benthic diatoms	DIATB	27	1132	396	9775
<i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minimum</i>)	LDAN	19	1668	553	15015
<i>Nitzschia closterium</i> (= <i>Cilindrotheca closterium</i>)	NCL	28	988	456	15925
<i>Proboscia alata</i>	PALA	12	3803	2411	82235
<i>Rhizosolenia fragilissima</i> (= <i>Dactyliosolen fragilissimus</i>)	RFRA	12	322	135	3640
<i>Rhizosolenia</i> spp.	RH	5	39	23	655
<i>Rhizosolenia stolterfothi</i> (= <i>Guinardia striata</i>)	RSTO	4	17	12	440
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	THNI	22	47980	30185	848665
<i>Thalassiothrix mediterranea</i> (= <i>Lioloma pacificum</i>)	TMED	8	628	531	19110
OTHERS					
<i>Eutreptiella gymnastica</i>	EUTR	26	23365	20126	726957
<i>Mesodinium</i> cf. <i>rubrum</i>	MESD	10	11364	9712	348676

Table V. Loadings of the selected taxa on the three first principal component of the analysis. Taxa ordinated according to the decreasing value of the first factor.

Code	Factor 1	Factor 2	Factor 3
SCRI	0,802	0,010	0,287
DSAC	0,785	0,087	0,182
PSEU2	0,744	0,006	-0,160
PALA	0,719	0,102	-0,134
PMIC	0,645	-0,264	-0,269
PMIN	0,633	0,160	0,206
AMIN	0,543	-0,200	-0,086
PRTG	0,495	0,322	0,085
PTRI	0,452	0,743	-0,068
RH	0,430	-0,067	0,102
PDIAB	0,428	-0,170	-0,052
EUTR	0,377	0,126	-0,511
GYRO	0,346	-0,033	-0,405
PRTP	0,337	0,044	0,007
CHP	0,316	-0,054	-0,561
DIATB	0,314	-0,271	0,503
NCL	0,236	-0,359	0,082
LDAN	0,197	0,131	-0,158
CFUR	0,173	-0,278	0,325
CFUS	0,168	-0,031	-0,364
PQIN	0,089	0,808	-0,075
RFRA	0,082	-0,264	-0,265
GYMN	0,059	0,520	0,367
CHG	0,028	-0,191	0,624
CPEL	-0,062	-0,250	0,148
PSEU1	-0,103	-0,583	0,489
GCOR	-0,104	-0,732	-0,073
RSTO	-0,136	0,275	0,456
COSC	-0,160	0,184	-0,193
THNI	-0,185	0,661	0,066
PSEU3	-0,254	0,746	0,155
TMED	-0,387	0,240	0,149
MESD	-0,446	0,231	-0,313
PSEU4	-0,522	-0,268	-0,588
% variance	17,04	12,99	9,34

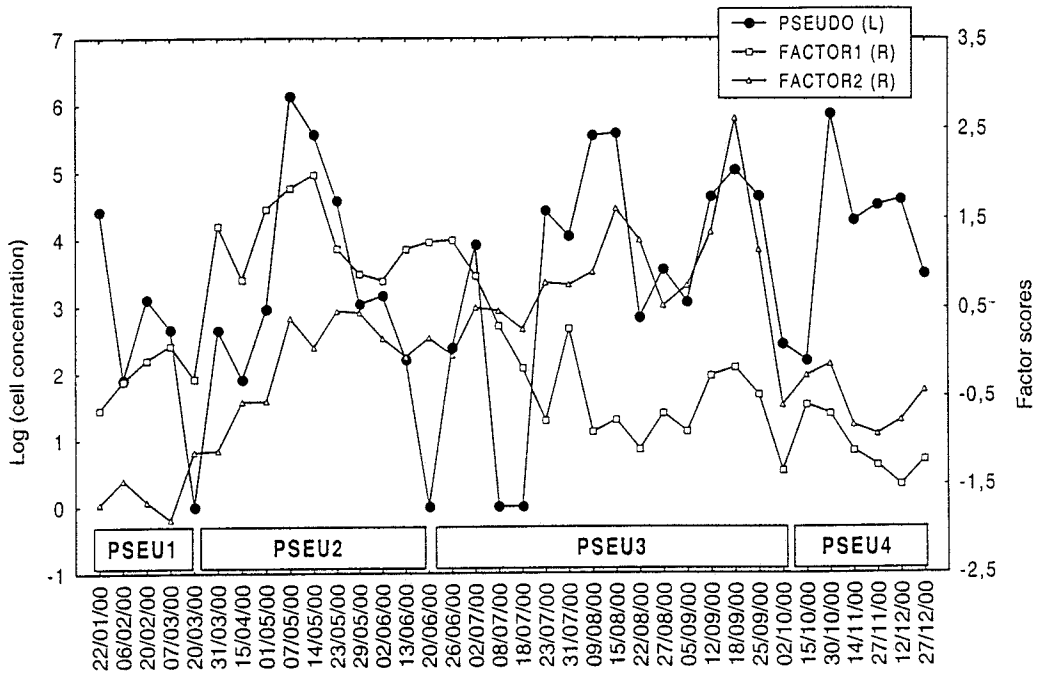


Fig. 6. *Pseudo-nitzschia* densities and factor scores of the first and second principal component during 2000 at St. Carles. At the bottom the artificial division of *Pseudo-nitzschia* in four groups for the multivariate analysis is indicated. Observe that Pseu2 follow the same dynamics that factor 1, and Pseu3 the same as factor 2.

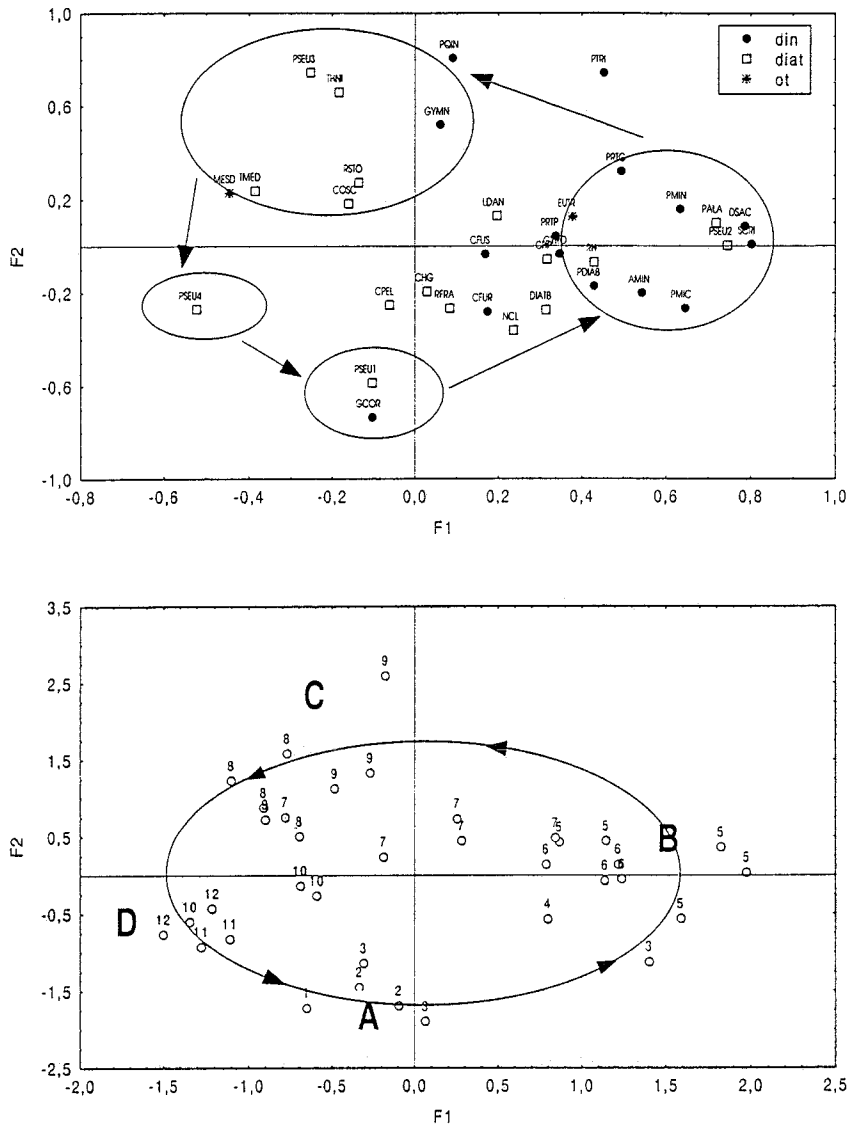


Fig. 7. a) Position of the species accordingly with the correlation coefficients in the space determined by the first and second principal components. The key for the codes is given in Table IV. b) Factor score value in the plane defined by the first and second PC, codes indicate months. Seasonality is marked in the graphs (A: winter, B: spring-early summer (May-June), C: summer-early autumn (July-September), D: autumn).

Discussion

From our analysis of multiple stations during 2000, we confirm the presence of *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* in coastal waters of Catalonia. Examination of samples from many stations and periods by SEM indicates that *P. pseudodelicatissima* is the dominant component of the *Pseudo-nitzschia* genus along this coastline, particularly in spring and autumn. A long-term phytoplankton monitoring program has been conducted in the Gulf of Naples (Mediterranean Sea) since 1984, and the most abundant species recorded has been *P. delicatissima* and *P. pseudodelicatissima* (Sarno and Dahlmann, 2000).

The physico-chemical conditions of the water in which high abundance of *Pseudo-nitzschia* were detected include large variations in both salinity and temperature. There is a broad environmental tolerance, hence its extensive distribution along the coast. Most of the earlier *Pseudo-nitzschia* blooms have been reported in a broad temperature optimum and this is consistent with its world-wide distribution, as it is found in areas where temperatures range from 2 to 28°C. The species are cosmopolitan in coastal waters (Hasle and Syvertsen, 1996) and often has a broad salinity tolerance (Lundholm *et al.* 1997). The presence of *Pseudo-nitzschia* spp. cells in Catalan waters is associated with a temperature range of 10 to 28°C and a broad salinity range of 25 to 38.1 psu. The versatility of this genus to adapt to a variety of environmental conditions reinforces the need to understand distributional patterns at the species level.

It is tempting to explain the observed species shifts as seasonal succession. However, along the coast, some peaks of *Pseudo-nitzschia* species in autumn cannot be ascribed to a single species, since *P. pseudodelicatissima* and *P. delicatissima* appeared concurrently at stations such as St. Carles, and no relative abundance was quantified by SEM. In a review of the occurrence of *Pseudo-nitzschia* on the West Coast of the USA, Fryxell *et al.* (1997) noted that it would be reasonable to look for different species during different seasons, e.g. *P. delicatissima* in the spring-summer and *P. pseudodelicatissima* in the autumn. From the artificial aggragation we can observe that Pseu1-Pseu4 appear together with different phytoplankton communities, the typical community of each season at St. Carles. Thus, the group of winter (Pseu1) appears together with *G. corsicum*, the group of spring-early summer (Pseu2) is mostly associated with dinoflagellates, in summer-early autumn (Pseu3) with

diatoms and *Pseudo-nitzschia* appears alone in autumn (Pseu4). As can be observed the phytoplankton community accompanying the genus *Pseudo-nitzschia* is always different and varies in relationship with the seasonality. Perhaps this would be better working at a species level, but such it has been commented upwards the identification and separation of species in mixed blooms is difficult. Anyway, our opinion is that even in the case to be able separating correctly the species, a different community typical for each species will not be found. This come from the PCA analysis (separating artificially 4 groups of *Pseudo-nitzschia* according to different seasonal blooms in St. Carles) which shows that *P. pseudodelicatissima* appears together with a community of dinoflagellates during spring-summer, alone in autumn and mixed with *P. delicatissima* and other diatoms during July-September.

No cases of toxicity (Amnesic Shellfish Poisoning) have been documented and therefore there is no relationship with the presence of toxic *Pseudo-nitzschia* species along the coast of Catalonia. *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *P. delicatissima* and *P. pungens* have been reported as potentially toxic elsewhere (Bates *et al.* 1998). *P. pseudodelicatissima* has produced toxic blooms in the Bay of Fundy, Canada (Martin *et al.* 1990), but isolates of this species from Australian waters (Hallegraeff 1994), Scandinavia (Lundholm *et al.* 1997) and California (Walz *et al.* 1994) were consistently non-toxic. Domoic acid was not detected in strains of *P. pseudodelicatissima* or *P. delicatissima* from the Gulf of Naples (Sarno and Dahlmann, 2000). Instead it has been detected in the Mediterranean and Atlantic coasts of France, related to the species *P. pseudodelicatissima* and *P. multiseries* (Amzil *et al.* 2001). Moreover, toxic and non-toxic strains seem to be present within the same morphospecies, suggesting high genetic variability among strains. These observations highlight the need for further studies to identify *Pseudo-nitzschia* species and to test their potential toxicity.

CAPÍTOL 6

Capítol 6

Phytoplankton assemblages in confined waters of the North-Western Mediterranean

Abstract

The research and control of harmful algae blooms (HABs) often focuses merely on just a few species of interest. There are opinions that differ widely from such a point of view (which is centred on target species) because this considerably reduces the predictability and understanding of the causes and factors determining why blooms of particular species occur.

Results of the multivariate analysis of phytoplankton assemblages in relation to HABs during an annual cycle in high-risk HAB occurrence locations (confined waters) along the coast of Catalonia (North-Western Mediterranean) are presented. The functional groups of phytoplankton distinguished from the multivariate analysis are *bloom-forming dinoflagellates* (within which there are toxic dinoflagellates), *oceanic dinoflagellates*, *bloom-forming nanoflagellates*, *summer-autumn diatoms* and *winter-spring diatoms*. Most functional groups occur at all sampling stations (of different degree of confinement) and along the entire coastline. Results shows that phytoplankton assemblages in confined waters follow the characteristic seasonal cycle (known for open waters). However, it has been found a relationship between the degree of water confinement and bloom magnitude (and the probability that it takes place). High risk HABs is represented by the toxic bloom-forming dinoflagellates group, which proliferates in large harbour and mainly during the summer. The identification of periods and/ or places by functional groups may serve as an HAB-occurrence risk index.

Introduction

The seasonal dynamics of the structure of the phytoplankton community in the coastal area of the North-Western Mediterranean is known from various pioneering studies carried out between 1940-1970 (Margalef, 1945; Margalef, 1965; Margalef, 1966; Margalef and Ballester, 1967; Margalef, 1968; Margalef, 1969; López and Arté, 1971; López and Arté, 1972, Estrada, 1972; Estrada, 1979; Estrada, 1980, Establier et al., 1986). While various studies have been carried out recently on the structure of the oceanic phytoplankton community in the North-Western Mediterranean (Estrada and Salat, 1989; Estrada *et al.*, 1999; Delgado *et al.*, 1992), fewer studies have been done to analyse the coastal phytoplankton community (Mura *et al.*, 1997).

Within the context of research on harmful algae blooms (HABs), it should be pointed out that reducing monitoring to just a few (harmful) species of interest considerably reduces the predictability and understanding of the causes and factors determining why a particular species blooms. Phytoplankton surveying is a slow process and requires people who are well trained, and working with the whole community clearly increases the required monitoring effort quite substantially. Thus, HAB monitoring is limited on most occasions to the target species. The rest of the phytoplankton community and its development has only been considered in specific studies on certain types of bloom in natural environments (Igniatides *et al.*, 1995; Karenz and Smayda, 1998; Pinckney *et al.*, 1998; Vernick, 2000).

Functional groups can be defined as non-phylogenetic groups of organisms (based on physiology, morphology or other features) that respond in a similar way to recurrent patterns of certain factors (Estrada, 2000). The identification of certain periods and places by means of the characteristic functional groups may serve as an HAB-occurrence risk index. The monitoring of HABs along the coastline of Catalonia has been carried out since 1995 in a Monitoring Programme whereby samples are taken in confined waters. As has been demonstrated in previous papers (Vila *et al.*, 2001a, Vila *et al.*, 2001b, veigeu Capítols 1 i 2), the frequency of appearance of dinoflagellate blooms in the Mediterranean is mostly associated with confined waters. The effects of harmful phytoplankton are recognised as being one of the main problems linked with coastal eutrophication (anthropogenic effects) that affects man and the environment in various ways (leading to the death of fauna, the

deterioration of the visible water quality and direct effects on human health, apart from the food chain) (EUROHAB, 1999). Besides being associated with shellfishing areas and accordingly regulated by legislation, there has also been a recent trend for HAB monitoring to be integrated within environmental quality vigilance and control programmes. This has occurred along the coastline of Catalonia (Vila *et al*, 2001a) and the Mediterranean Basin in general (the European STRATEGY project), the ultimate purpose being to study the increase of HABs and the causes of this.

In this paper, a study is made on the structure of the phytoplankton community over a one year cycle in 8 harbours (confined waters) and one beach. The objective is twofold: 1) Characterise the phytoplankton community according to seasons and places where there is a risk of HABs, and 2) Verify whether certain functional groups characterise these situations.

Material and methods

8 harbours and one beach (Badalona) were sampled during 1996 (Table I). The sampling frequency was weekly from May to October and once every two weeks during the rest of the year. Samples were taken from the pier in the most confined area in each harbour (defined as the area where water discoloration and suspended solids have usually been observed), and they were set and counted as described in chapter 1 (Vila *et al*, 2001a). One beach was sampled in order to provide an idea of any possible differences in the phytoplankton community between confined and non-confined waters.

Table I. The sampling stations, their location and characteristics.

Station	Lat.	Long.	Type of station	Type of harbour	Surface area (ha.)	Size
Roses	42°15'0" N	3° 10'0" E	harbour	PE	9	small
Palamós	41°50'5" N	3° 07'1" E	harbour	CPE	6	small
Blanes	41°40'3" N	2° 47'8" E	harbour	PE	8	small
Arenys de Mar	41°34'3" N	2° 33'3" E	harbour	PE	31	large
Badalona	41°26'5" N	2° 15'7" E	beach			
Barcelona	41°26'4" N	2° 10'2" E	harbour	CPE	370	large
Vilanova	41°12'3" N	1° 43'7" E	harbour	CPE	34	large
Coma-ruga	41°10'5" N	1° 30'8" E	harbour	E	1	small
Sant Carles de la Ràpita	40°36'6" N	0° 36'4" E	harbour	CPE	57	large

C: commercial; P: fishing; E: marina

The harbours that were sampled are representative of 44 harbours distributed along the coastline of Catalonia. The selection criteria were to choose: 1) Harbours representing the variability of size that exists, and 2) Harbours that enable the entire coastline to be represented. A total of 327 samples were counted. The entire phytoplankton community was identified by species or genus according to Steidinger and Tangen (1997), and, where this was impossible; the different taxa were lumped in categories such as “small unidentified dinoflagellates” or “centric diatoms”. The nanoflagellates were also counted using sedimentation and reverse microscope methods. Ciliates, tintinnids, rotifers, naupliis and copepoda (+ copepodids) were counted when they occurred.

Phytoplankton assemblages were studied by means of Principal Component Analysis (PCA) (StatSoft, 1996) based on all of the data collected (327 samples) at all nine stations. The taxa were selected for analysis according to their frequency of appearance in the samples (>9%). 54 species were selected for the PCA. The characteristics of the data sets used are summarised in Table II. A second PCA was performed using only the summer data (175 samples).

Table II. Statistics of the taxa used in the multivariate analysis for each season of the year; Np: number of occurrences; Av.>0: average number in cells·L⁻¹, calculated from the number of occurrences; SE: standard error (calculated on the basis of the number of occurrences); Av.: average number in cells·L⁻¹ (all samples); Max.: Maximum cell concentration (cells·L⁻¹) in each season of the year. The code gives the key to the names used in figures 3-4 and table V.

Taxa	Period No. samples Code	Winter (Jan.-March)					Spring (April-June)					
		47		95			47		95			
		Np	Av.>0	SE	Av.	Max.	Np	Av.>0	SE	Av.	Max.	
**	<i>Alexandrium minutum</i>	Amin	9	5982	599	1146	24265	37	65063	21403	25340	2026332
**	<i>Ceratium furca</i>	Cfur	8	168	13	29	400	45	76	7	36	380
**	<i>Ceratium fusus</i>	Cfus	9	42	3	8	120	38	77	6	31	360
**	<i>Dinophysis caudata</i>	Dcau	1	20	0	0	20	2	20	0	0	20
**	<i>Phalacroma rotundatum (=Dinophysis rotundata)</i>	Drot				0		19	214	20	43	1500
**	<i>Dinophysis sacculus</i>	Dsac	9	102	11	19	455	42	596	81	264	5460
**	<i>Gymnodinium splendens</i>	Gspl				0		26	113	11	31	910
**	<i>Gymnodinium</i> spp.	Gymn	1	2275	48	48	2275	3	607	12	19	910
**	<i>Gyrodinium cf. spirale</i>	Gyro	16	171	19	58	560	60	839	166	530	12740
**	<i>Gyrodinium impudicum</i>	Gimp				0		8	18123	917	1526	80535
**	<i>Heterocapsa</i> sp.	Hete	3	2275	118	145	5460	25	1074	67	283	4095
**	<i>Prorocentrum micans</i>	Pmic	21	1869	452	835	18200	84	3044	486	2691	23660
**	<i>Prorocentrum minimum</i>	Pmin	9	4550	385	871	13195	26	1716	198	470	15015
**	<i>Prorocentrum triestinum</i>	Ptri	14	2568	330	765	11830	55	171555	51887	99321	4000000
**	<i>Protoperdinium divergens</i>	Pdiv	1	60	1	1	60	17	28	1	5	60
**	<i>Peridinium quinquecorne</i>	Pqin	1	1365	29	29	1365	6	834	24	53	1820
**	<i>Protoperdinium diabolium</i>	Pdia	4	35	1	3	40	41	98	14	42	910
**	<i>Protoperdinium</i> spp. small	PrtP	14	89	13	27	455	67	501	165	354	15453
**	<i>Scrippsiella</i> spp.	Scri	25	2106	233	1120	5460	73	33633	10333	25845	921060
**	<i>Asterionellopsis glacialis</i>	Aqia	25	12473	1744	6635	46865	19	18452	2017	3690	177905
**	<i>Cerataulina pelagica</i>	Cpel	24	4210	860	2150	36400	33	19987	2098	6943	123305
**	<i>Coscinodiscus</i> spp.	Cosc	15	61	10	19	455	13	55	5	8	455
**	<i>Cyclotella</i> sp.	Cmen	35	2421	386	1803	13650	16	3051	188	514	13158
**	<i>Chaetoceros curvisetus+pseudocurvisetus</i>	Chcp	30	12966	2254	8276	85540	8	2629	106	221	6370
**	<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	Chlo	7	1602	112	239	4095	24	1325	129	335	7735
**	<i>Chaetoceros</i> spp. large (20 μ m)	ChG	19	6815	901	2755	34542	19	5725	450	1145	27755
**	<i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Mirallia</i>)	ChP	17	14128	1976	5110	82235	38	170201	31319	68080	2671074
**	<i>Ditylum brightwellii</i>	Dbri	29	914	152	564	4433	4	20	0	1	20
**	<i>Eucampia zodiacus</i>	Ezod	24	3684	569	1881	17745	3	443	8	14	455
**	<i>Lauderia</i> sp.	Laud	10	5460	621	1162	22295	6	12833	500	811	41405
**	<i>Leptocylindrus danicus (+minusus)</i>	Ldan	22	3909	708	1830	30030	46	54134	19047	26212	1796067

Taxa	Period No. samples Code	Winter (Jan.-March)					Spring (April-June)				
		47 Np	Av.>0	SE	Av.	Max.	95 Np	Av.>0	SE	Av.	Max.
** <i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i>	Ncl	36	1372	165	1051	3640	75	5030	1970	3971	184212
** <i>Odontella</i> sp.	Odon	27	305	49	175	1859	28	1339	244	395	22295
** <i>Pleurosigma</i> spp.	Pleu	36	71	8	54	200	67	197	96	139	9100
** <i>Proboscia alata</i>	Pala	2	683	21	29	910	15	453	32	72	2275
** <i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Pseu	38	9934	1977	8032	71890	62	30325	8921	19791	726291
** <i>Rhizosolenia</i> cf. <i>imbricata</i>	Rimb	24	2405	674	1228	30485	39	4943	628	2029	44590
** <i>Guinardia delicatula</i> (= <i>Rhizosolenia delicatula</i>)	Rdel					0	13	4885	360	669	32305
** <i>Dactyliosolen fragilissimus</i> (= <i>Rhizosolenia fragilissima</i>)	Rfra	2	518	17	22	715	6	3733	142	236	10010
** <i>Guinardia striata</i> (= <i>Rhizosolenia stolterfothi</i>)	Rsto	5	1265	71	135	2275	9	635	31	60	2727
** <i>Skeletonema costatum</i>	Skco	5	5824	282	620	7735	13	11065	612	1514	49595
** <i>Thalassionema nitzschioides</i>	Thni	31	1732	344	1142	12285	53	2263	279	1262	20930
** <i>Thalassiosira</i> spp.	Thal	12	41558	9358	10610	439956	8	4589	237	386	21450
** <i>Calcosolenia murrayi</i>	Calc					0	3	1061	22	34	1818
** <i>Syracosphaera pulchra</i>	Syvp	4	1820	104	155	4550	8	682	21	57	910
** OTHER COCCOLITHOPHORIDS	COCO	3	606	23	39	909	8	9133	693	769	65790
** <i>Cryptomonas</i> spp.	Cryp	25	29977	4117	15945	131580	79	44014	8119	36601	684216
** <i>Calycomonas</i> spp.	Calv	1	909	19	19	909	7	4843	180	357	13158
** <i>Eutreptiella gymnostica</i>	Eutr	28	1749	293	1042	10920	47	9313	1374	4607	93275
** <i>Pyramimonas</i> spp.	Pyra	22	38964	12545	18238	592110	73	102509	37755	78770	2565810
** <i>Chrysocromulina</i> spp.	Chrv	4	1023	47	87	1818	15	14058	833	2220	52632
** <i>Dictyocha fibula</i>	Dfib	11	558	38	131	910	24	590	32	149	1365
** NANOFLAGELLATES (2-20µm)	NANO	46	174561	31122	170847	1328958	95	231861	30961	231861	1592118
** <i>Mesodinium</i> cf. <i>rubrum</i>	Meso	15	4735	557	1511	15015	32	2688	306	905	26390
** CILIATES large (30 µm)	CILG	30	213	35	136	1365	81	593	132	506	9555
** CILIATES small	CILP	25	1249	174	664	6370	62	1413	140	922	6825
** ROTIFERS	ROTI	3	67	3	4	120	39	222	46	91	4240
** NAUPLIIS	NAUP	17	55	9	20	400	57	59	6	35	340
** TINTINNIDS large	TING	35	438	131	326	5720	81	1516	656	1293	61812
** TINTINNIDS small	TINP	8	797	61	136	1820	19	542	46	108	3185

Taxa	Period No. samples Code	Summer (July-Sept.)					Autumn (October-December)				
		106 Np	Av.>0	SE	Av.	Max.	79 Np	Av.>0	SE	Av.	Max.
** Alexandrium minutum	Amin	25	816	49	192	2730	6	126	6	10	455
** Ceratium furca	Chur	26	45	3	11	180	13	32	2	5	80
** Ceratium fusus	Ctus	11	29	1	3	40	8	30	1	3	80
** Dinophysis caudata	Dcau	15	67	5	9	460	3	33	1	1	40
** Phalacroma rotundatum (=Dinophysis rotundata)	Drot	9	40	1	3	80	2	20	0	1	20
** Dinophysis sacculus	Dsac	42	1426	390	565	40950	10	191	14	24	940
** Gymnodinium splendens	Gspl	26	119	8	29	420	3	27	1	1	40
** Gymnodinium spp.	Gymn	13	2274	137	279	13195	1	1365	17	17	1365
** Gyrodinium cf. spirale	Gyro	47	2768	1103	1227	116935	20	645	86	163	5460
** Gyrodinium impudicum	Gimp	40	36224	5070	13669	388143				0	
** Heterocapsa sp.	Hete	57	16556	4765	8903	481770	32	3640	497	1474	33670
** Prorocentrum micans	Pmic	68	4045	921	2595	76440	30	952	126	361	7280
** Prorocentrum minimum	Pmin	30	6870	1563	1944	165620	21	2795	358	743	26845
** Prorocentrum triestinum	Ptri	72	32373	7072	21989	508131	44	7180	1094	3999	55055
** Protoperdinium divergens	Pdiv	5	36	1	2	60	3	27	1	1	40
** Peridinium quinquecorne	Pqin	18	1061	46	180	2727	2	455	8	12	455
** Protoperdinium diabolium	Pdia	13	108	9	13	910	12	91	7	14	455
** Protoperdinium spp. small	Prtp	63	1669	163	992	8181	20	1070	77	271	3640
** Scripsiella spp.	Scri	72	49823	16923	33842	1671066	26	1787	142	588	6370
** Asterionellopsis atacialis	Anla	9	18096	1223	1536	129078	21	10800	1071	2871	55510
** Cerataulina pelagica	Cpel	32	84804	18351	25601	1841840	22	915	94	255	5005
** Coscinodiscus spp.	Cosc	15	44	2	6	160	15	52	3	10	200
** Cyclotella sp.	Cmen	26	59962	9931	14708	1026324	30	31754	7781	12059	578864
** Chaetoceros	Chcp	12	6801	373	770	33633	20	6498	671	1645	46865
** curvisetus+pseudocurvisetus											
** Chaetoceros lorenzianus	Chlo	7	3636	116	240	9999	21	1884	174	501	10010
** Chaetoceros spp. large (20 µm)	ChG	13	13214	1035	1621	94640	21	2457	213	653	9555
** Chaetoceros spp. small (+Mirallia)	ChP	43	43076	6665	17474	506313	34	21643	5630	9315	342108
** Ditylum brightwellii	Dbri	2	465	9	9	910	10	1801	169	228	13195
** Eucampia zodiacus	Ezod	1	60	1	1	60	3	1372	46	52	3640
** Lauderia sp.	Laud	10	2790	195	263	20475	22	3370	472	939	35945
** Leptocylindrus danicus (+minusus)	Ldan	61	26130	4703	15037	384507	51	13231	3064	8541	212940
** Cylindrotheca closterium+ Nitzschia longissima	Ncl	86	23798	6462	19308	487301	63	4003	858	3192	44590

Taxa	Period No. samples Code	Summer (July-Sept.) 106					Autumn (October-December) 79				
		Np	Av.>0	SE	Av.	Max.	Np	Av.>0	SE	Av.	Max.
** <i>Odontella</i> sp	Odon	16	788	51	119	4095	27	185	20	63	910
** <i>Pleurosigma</i> spp.	Pleu	52	145	39	71	4095	51	77	13	50	910
** <i>Proboscia alata</i>	Pala	19	383	23	69	1365	18	79	8	18	455
** <i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Pseu	47	46125	13912	20452	1459854	51	29263	11887	18891	907902
** <i>Rhizosolenia</i> cf. <i>imbricata</i>	Rimb	1	455	4	4	455	12	65	4	10	240
** <i>Guinardia delicatula</i> (= <i>Rhizosolenia delicatula</i>)	Rdel	13	3374	191	414	14105	3	1972	47	75	3185
** <i>Dactyliosolen fragilissimus</i> (= <i>Rhizosolenia fragilissima</i>)	Rfra	23	6844	632	1485	61812	14	2003	130	355	6370
** <i>Guinardia striata</i> (= <i>Rhizosolenia stouterfothi</i>)	Rsto	13	375	21	46	1820	14	396	29	70	1365
** <i>Skeletonema costatum</i>	Skco	57	192303	51395	103408	5000040	32	24457	4647	9907	271932
** <i>Thalassionema nitzschioides</i>	Thni	36	19052	2928	6471	230230	39	2022	297	998	14560
** <i>Thalassiosira</i> spp.	Thal	37	35386	4991	12352	447372	37	5862	980	2746	57330
** <i>Calciosolenia murrayi</i>	Calc	14	1873	87	247	6370	3	455	10	17	455
** <i>Syracosphaera pulchra</i>	Svro	10	773	27	73	2275	7	1105	55	98	4095
** OTHER COCCOLITHOPHORIDS	COCO	30	20647	3294	5843	328950	17	7941	502	1709	26316
** <i>Cryptomonas</i> spp.	Cryp	82	56074	9207	43378	565794	55	23430	3360	16312	157896
** <i>Calycomonas</i> spp.	Calv	18	9674	551	1643	39474	7	5597	258	496	13158
** <i>Eutreptiella gymnastica</i>	Eutr	64	26063	4862	15736	325611	36	2629	337	1198	19110
** <i>Pyramimonas</i> spp.	Pyra	90	91326	17131	77541	1592118	54	33693	5234	23031	293862
** <i>Chrysocromulina</i> spp.	Chrv	38	17192	2221	6163	210528	13	9433	516	1552	26316
** <i>Dictyocha fibula</i>	Dfib	3	455	7	13	455	14	524	28	93	1365
** NANOFAGELLATES (2-20µm)	NANO	105	437994	83930	433862	7927575	78	151071	26327	149159	1855278
** <i>Mesodinium</i> cf. <i>rubrum</i>	Meso	57	3065	452	1648	40950	22	21000	4039	5848	299061
** CILIATES large (30 µm)	CILG	76	309	47	222	4095	48	157	23	95	1440
** CILIATES small	CILP	87	3048	497	2502	45450	40	2173	309	1100	18655
** ROTIFERS	ROTI	53	185	26	93	2500	20	101	7	26	380
** NAUPLIIS	NAUP	77	109	17	79	1360	51	140	27	90	1620
** TINTINNIDS large	TING	89	1624	323	1363	23205	59	1130	383	844	27755
** TINTINNIDS small	TINP	28	1007	73	266	4095	23	2024	356	589	26430

* Species of annual PCA, ** Species of summer PCA

Results

Spatio-temporal distribution

Figure 1 gives the average annual concentrations of dinoflagellates, diatoms, nanoflagellates and coccolithophorids for each of the stations studied. Maximum dinoflagellate concentrations ($>10^5$ cells·L⁻¹) appear at Arenys, Badalona, Barcelona and St. Carles, and minimum ones at Blanes and Coma-ruga ($>1\cdot 10^4$ cells·L⁻¹). Maximum diatom concentrations ($>2\cdot 10^5$ cells·L⁻¹) appear at Blanes, Barcelona and St. Carles.

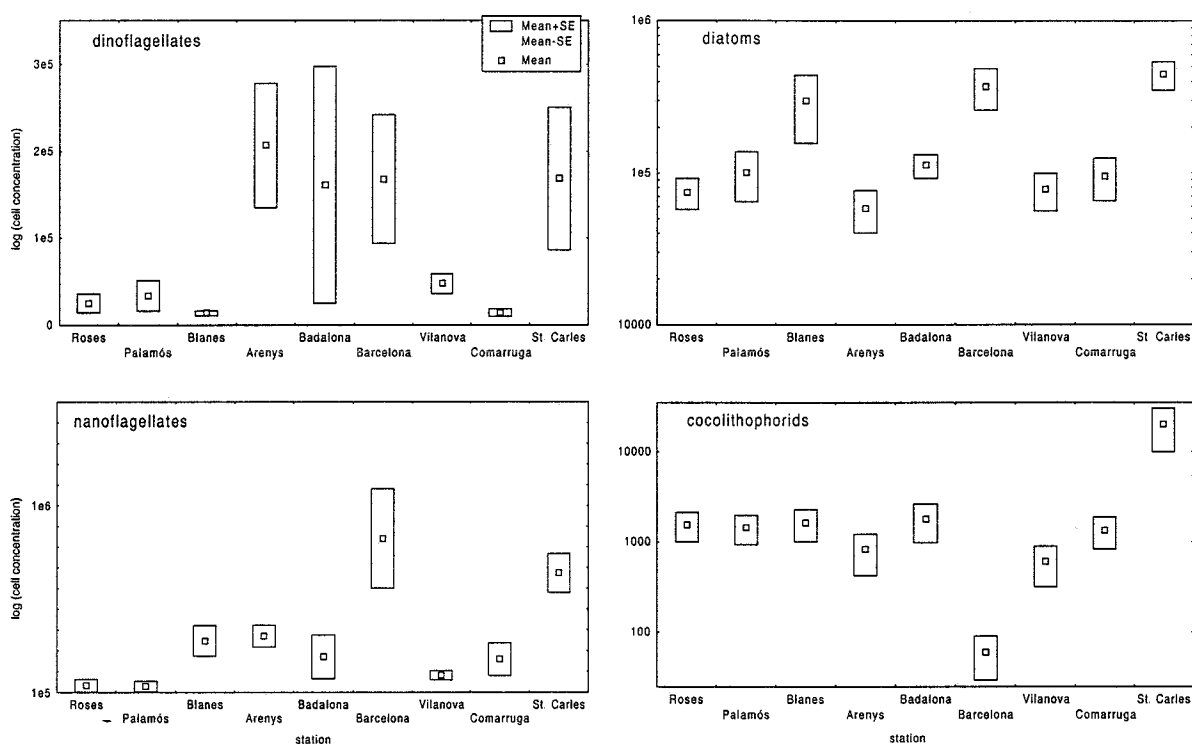


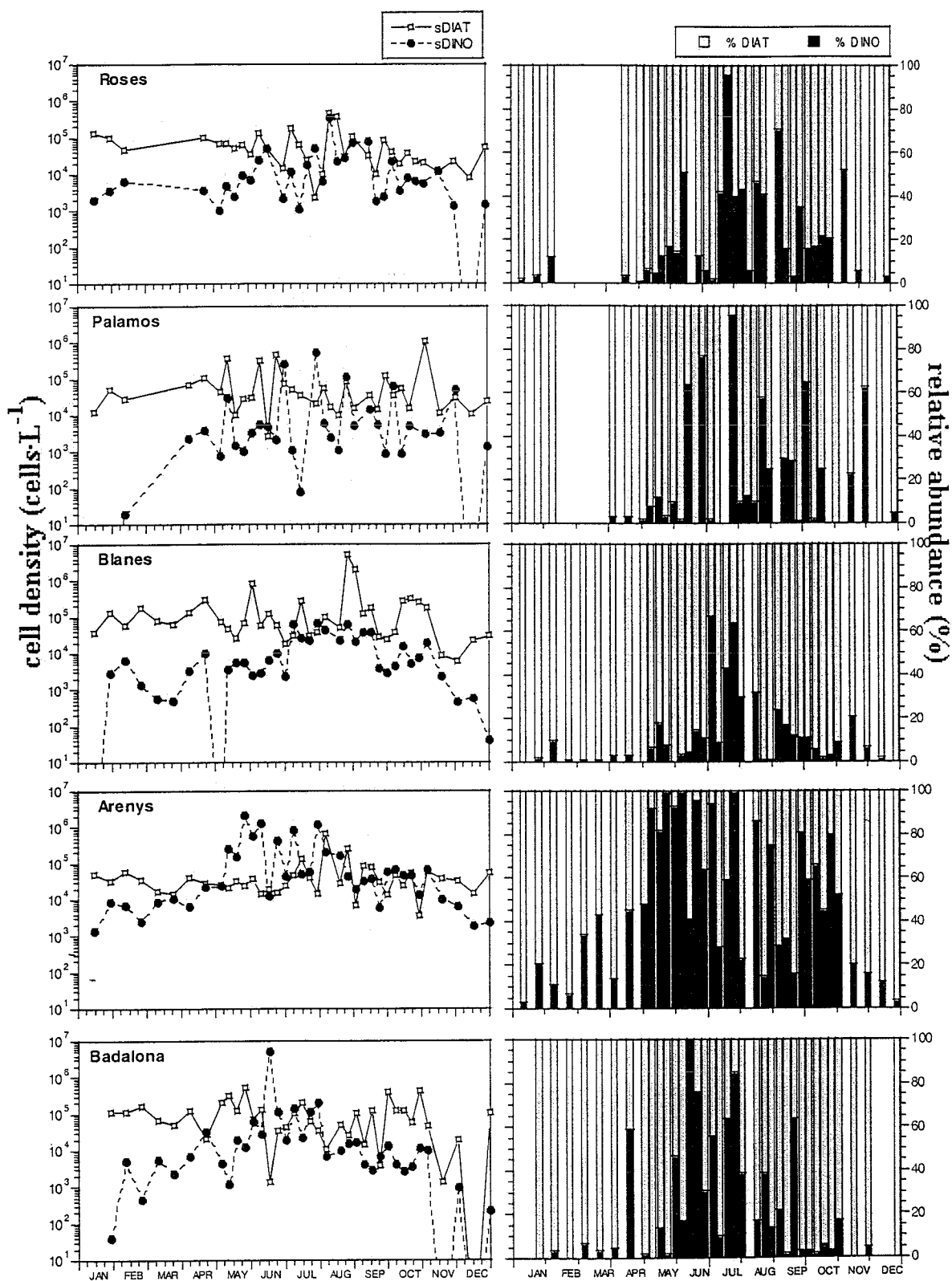
Figure 1. Annual average concentrations of dinoflagellates, diatoms, nanoflagellates and coccolithophorids at each of the 9 stations studied.

The average annual concentrations of nanoflagellates are higher than 10^5 cells·L⁻¹ at all of the stations, with the highest values being detected at Barcelona and St. Carles. The coccolithophorids have low average concentrations (around 10^3 cells·L⁻¹) except for St. Carles where they are higher ($> 10^4$ cells·L⁻¹) and Barcelona where they are lower (around 10^2 cells·L⁻¹).

Figure 2 gives the total dinoflagellate and diatom cell densities at each of the stations and their relative abundance throughout the annual cycle. Maximum dinoflagellate concentrations are detected during spring and summer. It can be seen that there is a certain amount of latitudinal gradation with stations to the south (St. Carles, Coma-ruga and Vilanova) having maximum concentrations in spring, the central coastal area during spring and summer (except in Barcelona where those in summer clearly predominate) and to the north (Blanes, Palamós and Roses) in summer. Except for St. Carles (where *Gyrodinium corsicum* blooms are detected), dinoflagellate concentrations are low during the winter (10^3 - 10^4 cells·L⁻¹) and do not reach bloom concentrations. As for the relative numbers of dinoflagellates and diatoms, a predominance of dinoflagellates is observed during the warm months from May-June to September-October, and of diatoms during the rest of the year. The seasonal distribution of diatoms is not so clear; in some places, the blooms predominate in summer (Barcelona) while in others, this occurs in spring and/or autumn (Palamós, Blanes, Badalona).

The presence of potentially toxic dinoflagellates (*Alexandrium minutum*, *A. tamarense*, *A. catenella*, *Dinophysis caudata*, *Phalacroma rotundatum* (= *D. rotundata*), *D. sacculus*, *Gyrodinium corsicum* and *Prorocentrum mexicanum*) was detected in 54% of the samples analysed (Table III). On certain occasions these potentially toxic microalgae became highly abundant. This is the case, for example, with the *A. minutum* bloom that occurred at the Arenys harbour in spring, reaching between 63% and 96% of the entire microphytoplankton assemblage (diatoms and dinoflagellates). A bloom of *A. minutum* at Vilanova during February reached 12-20%, while another at St. Carles during the same month was dominated basically by *Gyrodinium corsicum* and reached 18%. At Blanes and Palamós, the level of *Prorocentrum mexicanum* in the microphytoplankton community reached between 12% to 22% in the autumn. The *Pseudo-nitzschia* spp. genus (which has potentially toxic species) was present in 61% of the samples. The main blooms caused by this genus in 1996 occurred during the months of May, July, September and October. Bloom-forming dinoflagellate species cells were present in 87% of all samples. In samples where the community was dominated (>75%) by bloom-forming dinoflagellates, the bloom phenomena were caused by *A. minutum* (which is also toxic), *Prorocentrum triestinum*, *Scripsiella* spp., *Prorocentrum micans*, *Gyrodinium impudicum* and *Heterocapsa* sp.

Phytoplankton assemblages in confined waters



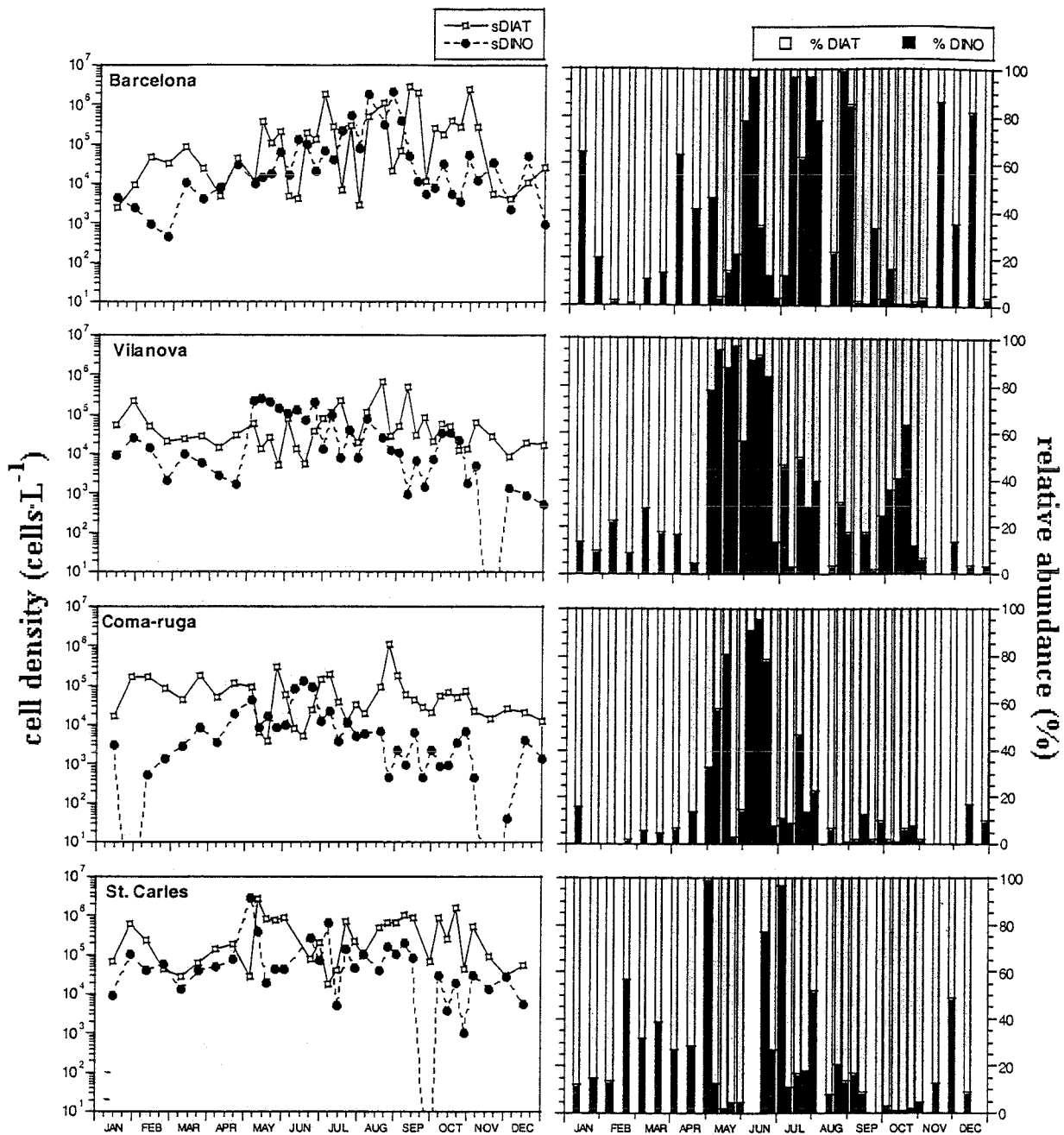


Figure 2. Total dinoflagellate and diatom cell densities at each station and their relative abundance throughout 1996 (weekly sample from May to October and once every two weeks during the rest of the year).

The 10 most frequent and/or abundant dinoflagellates and diatoms are given in Table IV. The top 10 species of dinoflagellates and diatoms have been arranged in order according to their frequency and abundance during the four seasons of the year in order to clarify which species

were the most frequent and/or abundant. The most common and abundant among the thecate dinoflagellates were *Scrippsiella* spp., *Prorocentrum triestinum*, *P. minimum*, *P. micans*, small *Protoperidinium* spp., *Heterocapsa* sp. *Ceratium furca* and *C. fusus* were frequently recorded but cells concentrations were low (max. 400 cells·L⁻¹). The non-thecate *Gyrodinium* cf. *spirale* (heterotrophic) was commonly recorded all year round and attained the highest cell concentrations (max. 10⁵ cells·L⁻¹) during the summer months. *Alexandrium minutum* (PSP-producer) was observed all year round, but only bloomed during winter and spring in 1996. *D. sacculus* (DSP-producer) and *Gyrodinium impudicum* bloomed in spring and summer. In 1996, *Alexandrium catenella* (PSP-producer) was detected in the harbour of Barcelona during the summer months. *Prorocentrum mexicanum* and *Pratjetella medusoides* were frequently detected during autumn. *Gyrodinium corsicum* (ichtiotoxic species) was only recorded at one station in the southern region (harbour of St. Carles) and bloomed during winter-spring months. The most commonly recorded and abundant diatoms were *Asterionellopsis glacialis*, *Chaetoceros* spp., *Cylindrotheca closterium* (+ *Nitzschia longissima*), *Leptocylindrus danicus* (+ *minimus*), *Pseudo-nitzschia* spp. and *Thalassionema nitzschioides*. *Ditylum brighwellii* and *Eucampia zodiacus* were recorded during winter and *Skeletonema costatum* bloomed during summer and autumn.

Few coccolithophorids were recorded except at the harbour of St. Carles. Within this group, *Acanthoica quatrosipina*, *Calciosolenia murrayi*, *Rabdosphaera claviger* and *Syracosphaera pulchra* were identified. The silicoflagellate *Dictiocha fibula* was also present all along the coast although concentrations were low (< 1500 cells·L⁻¹). As for nanoflagellates, cells similar to the *Cryptomonas*, *Pyramimonas*, *Chrysocromulina* and *Calycomonas* genera were also recorded everywhere. The flagellate *Eutreptiella gymnastica* and the ciliate *Mesodinium* cf. *rubrum* were also common and abundant in the plankton.

Table III. The most important bloom incidents of toxic or bloom-forming dinoflagellates, and diatoms. The toxic species or bloom formers are given, together with the sample location, month, maximum concentration (in cases where there were various toxic or bloom-forming species, the concentration corresponds to the dominant species and appears in bold type in the first column) and the % of toxic and bloom-forming species in relation to the whole microphytoplankton assemblage (dinoflagellates and diatoms).

Species	Station	Month	Max. conc.*	% toxic or bloom-forming species
Toxic dinoflagellates				
% samples with presence of potentially toxic dinoflagellates: 54				
<i>A. minutum</i> , <i>D. sacculus</i>	Arenys	May	2x10 ⁶	63-96
<i>P. mexicanum</i>	Blanes	November	1300	12
<i>P. mexicanum</i>	Palamós	September	4300	22
<i>G. corsicum</i> , <i>A. minutum</i> , <i>D. sacculus</i>	St. Carles	February	17000	18
<i>A. minutum</i> , <i>D. sacculus</i>	Vilanova	Jan.-Feb.	12000	12-20
Toxic diatoms				
% samples with presence of potentially toxic diatoms: 61				
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Badalona	May	4.4x10 ⁵	79
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Barcelona	September	1.4x10 ⁶	51
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Blanes	May	7.2x10 ⁵	58-90
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Coma-ruga	July	1.8x10 ⁵	85
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Roses	July	1.2x10 ⁵	67
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	St. Carles	October	9x10 ⁵	57-65
Bloom-forming dinoflagellates				
% samples with presence of bloom-forming dinoflagellates: 87				
<i>A. minutum</i> , <i>Scropsiella</i> spp., <i>P. triestinum</i>	Arenys	May	2x10 ⁶	80-99
<i>P. triestinum</i> , <i>Scropsiella</i> spp., <i>P. micans</i> , <i>A. minutum</i>	Arenys	June	1x10 ⁶	83-96
<i>P. triestinum</i> , <i>Scropsiella</i> spp., <i>P. micans</i>	Badalona	June	4x10 ⁶	97
<i>Heterocapsa</i> sp., <i>P. triestinum</i> , <i>P. micans</i>	Barcelona	9 July	1.1x10 ⁵	97
<i>Scropsiella</i> spp., <i>G. impudicum</i> , <i>P. triestinum</i>	Barcelona	30 July	1.6x10 ⁶	77
<i>P. triestinum</i> , <i>P. micans</i> , <i>G. impudicum</i>	Palamós	July	4.5x10 ⁵	91
<i>P. triestinum</i> , <i>P. micans</i>	St. Carles	April	2.6x10 ⁶	96
<i>Scropsiella</i> spp., <i>G. impudicum</i> , <i>P. triestinum</i>	St. Carles	July	4.8x10 ⁵	77
<i>P. triestinum</i> , <i>Scropsiella</i> spp., <i>P. micans</i>	Vilanova	May	2.0x10 ⁵	80-85
<i>Scropsiella</i> spp., <i>A. minutum</i>	Vilanova	June	1.9x10 ⁵	78

Table IV. The first 10 species of dinoflagellates and diatoms arranged according to their frequency and abundance during the four seasons of the year.

DINOFLAGELLATES

Maximum occurrences Winter	Maximum concentrations (Cells L ⁻¹)
<i>Scrippsiella</i> spp.	25 <i>Gyrodinium cypsicum</i> 4·10 ⁴
<i>Prorocentrum micans</i>	21 <i>Alexandrium minutum</i> 2·10 ⁴
<i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i>	16 <i>Prorocentrum micans</i> 2·10 ⁴
<i>Prorocentrum triestinum</i>	14 <i>Prorocentrum minimum</i> 1·10 ⁴
<i>Protoperdinium</i> spp.	14 <i>Prorocentrum triestinum</i> 1·10 ⁴
<i>Protoperdinium</i> spp. small	10 <i>Heterocapsa</i> sp. 5·10 ³
<i>Alexandrium minutum</i>	9 <i>Scrippsiella</i> spp. 5·10 ³
<i>Ceratium furca</i>	9 <i>Protoperdinium</i> spp. small 3·10 ³
<i>Dinophysis sacculus</i>	9 <i>Gymnodinium</i> spp. 2·10 ³
<i>Prorocentrum minimum</i>	9 <i>Peridinium quinquecorne</i> 1·10 ³

Spring

<i>Prorocentrum micans</i>	84 <i>Prorocentrum triestinum</i> 4·10 ⁶
<i>Scrippsiella</i> spp.	73 <i>Alexandrium minutum</i> 2·10 ⁶
<i>Protoperdinium</i> spp. small	67 <i>Scrippsiella</i> spp. 9·10 ⁵
<i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i>	60 <i>Gyrodinium impudicum</i> 8·10 ⁴
<i>Prorocentrum triestinum</i>	55 <i>Prorocentrum micans</i> 2·10 ⁴
<i>Ceratium furca</i>	45 <i>Protoperdinium</i> spp. small 2·10 ⁴
<i>Dinophysis sacculus</i>	42 <i>Prorocentrum minimum</i> 2·10 ⁴
<i>Protoperdinium diabolium</i>	41 <i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i> 1·10 ⁴
<i>Ceratium furca</i>	38 <i>Dinophysis sacculus</i> 5·10 ³
<i>Alexandrium minutum</i>	37 <i>Gyrodinium corsicum</i> 5·10 ³

Summer

<i>Prorocentrum triestinum</i>	72 <i>Scrippsiella</i> spp. 2·10 ⁶
<i>Scrippsiella</i> spp.	72 <i>Prorocentrum triestinum</i> 5·10 ⁵
<i>Prorocentrum micans</i>	68 <i>Heterocapsa</i> sp. 5·10 ⁵
<i>Protoperdinium</i> spp. small	63 <i>Gyrodinium impudicum</i> 4·10 ⁵
<i>Heterocapsa</i> sp.	57 <i>Prorocentrum minimum</i> 2·10 ⁵
<i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i>	47 <i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i> 1·10 ⁵
<i>Dinophysis sacculus</i>	42 <i>Prorocentrum micans</i> 8·10 ⁴
<i>Gyrodinium impudicum</i>	40 <i>Dinophysis sacculus</i> 4·10 ⁴
<i>Prorocentrum minimum</i>	30 <i>Alexandrium catenella</i> 4·10 ⁴
<i>Ceratium furca</i>	26 <i>Gymnodinium</i> spp. 1·10 ⁴
<i>Gymnodinium splendens</i>	26

Autumn

<i>Prorocentrum triestinum</i>	44 <i>Prorocentrum triestinum</i> 6·10 ⁴
<i>Heterocapsa</i> sp.	32 <i>Heterocapsa</i> sp. 3·10 ⁴
<i>Prorocentrum micans</i>	30 <i>Prorocentrum minimum</i> 3·10 ⁴
<i>Scrippsiella</i> spp.	26 <i>Pratjetella medusoides</i> (=Leptodiscus medusoides) 2·10 ⁴
<i>Prorocentrum minimum</i>	21 <i>Prorocentrum micans</i> 7·10 ³
<i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i>	20 <i>Scrippsiella</i> spp. 6·10 ³
<i>Protoperdinium</i> spp. small	20 <i>Gyrodinium</i> cf. <i>spirale</i> 5·10 ³
<i>Ceratium furca</i>	13 <i>Prorocentrum mexicanum</i> 4·10 ³
<i>Prorocentrum mexicanum</i>	13 <i>Protoperdinium</i> spp. small 4·10 ³
<i>Protoperdinium diabolium</i>	12 <i>Gymnodinium</i> spp. 1·10 ³

DIATOMS

Maximum occurrences	Maximum concentrations (Cells L ⁻¹)
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	38 <i>Thalassiosira</i> spp. 4·10 ⁵
<i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i>	36 <i>Chaetoceros curvisetus</i> + <i>pseudocurvisetus</i> 9·10 ⁴
<i>Pleurosigma</i> spp.	36 <i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>) 8·10 ⁴
<i>Cyclotella</i> sp.	35 <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. 7·10 ⁴
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	31 <i>Asterionellopsis glacialis</i> 5·10 ⁴
<i>Chaetoceros curvisetus</i> + <i>pseudocurvisetus</i>	30 <i>Cerataulina pelagica</i> 4·10 ⁴
<i>Ditylum brightwellii</i>	29 <i>Chaetoceros</i> spp. large (20 µm) 3·10 ⁴
<i>Odontella</i> sp.	27 <i>Rhizosolenia</i> cf. <i>imbricata</i> 3·10 ⁴
<i>Asterionellopsis glacialis</i>	25 <i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>) 3·10 ⁴
<i>Cerataulina pelagica</i>	24 <i>Lauderia</i> sp. 2·10 ⁴
<i>Eucampia zodiacus</i>	24
<i>Rhizosolenia</i> cf. <i>imbricata</i>	24

<i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i>	75 <i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>) 3·10 ⁶
<i>Pleurosigma</i> spp.	67 <i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>) 2·10 ⁶
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	62 <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. 7·10 ⁵
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	53 <i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i> 2·10 ⁵
<i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>)	46 <i>Asterionellopsis glacialis</i> 2·10 ⁵
<i>Rhizosolenia</i> cf. <i>imbricata</i>	39 <i>Cerataulina pelagica</i> 1·10 ⁵
<i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>)	38 <i>Skeletonema costatum</i> 5·10 ⁴
<i>Cerataulina pelagica</i>	33 <i>Rhizosolenia</i> cf. <i>imbricata</i> 4·10 ⁴
<i>Odontella</i> sp.	28 <i>Lauderia</i> sp. 4·10 ⁴
<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	24 <i>Guinardia delicatula</i> 3·10 ⁴

<i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i>	86 <i>Skeletonema costatum</i> 5·10 ⁶
<i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>)	61 <i>Cerataulina pelagica</i> 2·10 ⁶
<i>Skeletonema costatum</i>	57 <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. 1·10 ⁶
<i>Pleurosigma</i> spp.	52 <i>Cyclotella</i> sp. 1·10 ⁶
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	47 <i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>) 5·10 ⁵
<i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>)	43 <i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i> 5·10 ⁵
<i>Thalassiosira</i> spp.	37 <i>Thalassiosira</i> spp. 4·10 ⁵
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	36 <i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>) 4·10 ⁵
<i>Cerataulina pelagica</i>	32 <i>Thalassionema nitzschioides</i> 2·10 ⁵
<i>Cyclotella</i> sp.	26 <i>Asterionellopsis glacialis</i> 1·10 ⁵

<i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i>	63 <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. 9·10 ⁵
<i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>)	51 <i>Cyclotella</i> sp. 6·10 ⁵
<i>Pleurosigma</i> spp.	51 <i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>) 3·10 ⁵
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	51 <i>Skeletonema costatum</i> 3·10 ⁵
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	39 <i>Leptocylindrus danicus</i> (+ <i>minus</i>) 2·10 ⁵
<i>Thalassiosira</i> spp.	37 <i>Thalassiosira</i> spp. 6·10 ⁴
<i>Chaetoceros</i> spp. small (+ <i>Miralia</i>)	34 <i>Asterionellopsis glacialis</i> 6·10 ⁴
<i>Skeletonema costatum</i>	32 <i>Chaetoceros curvisetus</i> + <i>pseudocurvisetus</i> 5·10 ⁴
<i>Cyclotella</i> sp.	30 <i>Cylindrotheca closterium</i> + <i>Nitzschia longissima</i> 4·10 ⁴
<i>Odontella</i> sp.	27 <i>Lauderia</i> sp. 4·10 ⁴

Phytoplankton assemblages

The three main axes of the multivariate analysis (PCA) carried out on the matrix of all of the 327 samples and 54 selected species accounts for 27% of the variance ($f_1=14.1\%$; $f_2=7.5\%$; $f_3= 5.5 \%$). The first factor (Table V) gives a positive correlation for the majority of dinoflagellates and nanoflagellates, and a negative correlation for some diatoms, present mostly during cold months (*Ditylum brighweli*, *Eucampia zodiacus*, *Rhizosolenia* cf. *imbricata*, *Odontella* sp.-spring). The second factor gives a negative correlation for the majority of the species, above all the diatoms (*Thalasionema nitzschioides*, *Cyclotella* sp., *Ditylum brighweli*, *Asterionellopsis glacialis*, *Pseudo-nitzschia* spp., *Chaetoceros* spp., *Cerataulina pelagica*, *Thalassiosira* sp., *Eucampia zodiacus* and *Odontella* sp.). Factor 3 discriminates between the group of diatoms that were characteristic during summer-autumn (*Cylindrotheca closterium+Nitzschia longissima*, *Cyclotella* sp., *Leptocylindrus danicus+ minimus*, *Dactyliosolen fragilissimus*, *Skeletonema costatum*) and those that occurred basically during winter-spring (*Rhizosolenia* cf. *imbricata*, *Eucampia zodiacus*, *Ditylum brighweli*, *Asterionellopsis glacialis*, *Odontella* sp., big *Chaetoceros* spp.) (Table V).

Table V. Correlation coefficients (loadings) of the taxa selected for the three main components of the analysis. a) Annual analysis and b) summer analysis. The taxa are arranged according to the decreasing value of the coefficient. Codes in Table II.

Phytoplankton assemblages in confined waters

A) Annual

code	f1	code	f2	code	f3
SCRI	0.72	DROT	0.11	SKCO	0.48
ROTI	0.72	PDIA	0.06	THAL	0.44
PTRI	0.67	PALA	0.02	RFRA	0.44
DSAC	0.66	AMIN	0.01	NCL	0.29
PRTP	0.62	PTRI	-0.01	NAUP	0.28
CILG	0.62	NAUP	-0.01	COVA	0.27
GSPL	0.61	COCO	-0.02	COCO	0.26
PMIC	0.60	DSAC	-0.02	HETE	0.25
GYRO	0.59	GYRO	-0.03	CMEN	0.24
GIMP	0.55	GSPL	-0.04	MESO	0.23
PYRA	0.53	RSTO	-0.06	LDAN	0.21
EUTR	0.52	ROTI	-0.06	GIMP	0.21
CRYP	0.49	SCRI	-0.08	TINP	0.21
CHRY	0.49	PYRA	-0.08	CHRY	0.18
AMIN	0.48	HETE	-0.09	LAUD	0.17
HETE	0.47	CFUR	-0.09	CILP	0.16
CILP	0.46	PMIC	-0.10	PMIN	0.16
NANO	0.45	PRTP	-0.10	PYRA	0.15
TING	0.43	CILP	-0.12	CRYP	0.13
PDIA	0.32	GIMP	-0.12	CHLO	0.09
MESO	0.26	PMIN	-0.12	EUTR	0.08
PMIN	0.26	SYRP	-0.14	COSC	0.07
CHP	0.19	COVA	-0.14	CHP	0.07
CALY	0.18	TINP	-0.14	RSTO	0.06
SKCO	0.14	TING	-0.15	NANO	0.04
CFUR	0.12	CILG	-0.16	CHCP	0.02
SYRP	0.12	CRYP	-0.17	SYRP	-0.01
RFRA	0.11	NCL	-0.18	PTRI	-0.01
COCO	0.09	CFUS	-0.18	PALA	-0.04
NAUP	0.08	PLEU	-0.18	ROTI	-0.06
LDAN	0.07	RFRA	-0.19	CPEL	-0.11
TINP	0.05	MESO	-0.21	DROT	-0.11
PALA	0.04	EUTR	-0.21	CHG	-0.11
CMEN	0.03	CHRY	-0.23	PRTP	-0.12
THAL	0.03	SKCO	-0.25	TING	-0.12
NCL	0.01	NANO	-0.26	GSPL	-0.13
CHLO	0.01	CHLO	-0.27	ODON	-0.15
DROT	0.00	DFIB	-0.31	DFIB	-0.16
THNI	-0.04	RIMB	-0.33	AGLA	-0.17
LAUD	-0.04	LAUD	-0.37	THNI	-0.19
CFUS	-0.06	CHP	-0.39	DBRI	-0.20
CPEL	-0.13	LDAN	-0.41	EZOD	-0.21
RSTO	-0.17	COSC	-0.42	CILG	-0.22
CHG	-0.17	ODON	-0.42	PSEU	-0.22
PSEU	-0.18	EZOD	-0.42	PDIA	-0.25
COSC	-0.22	THAL	-0.43	GYRO	-0.26
DFIB	-0.24	CHG	-0.43	DSAC	-0.32
CHCP	-0.26	CPEL	-0.47	PLEU	-0.32
PLEU	-0.26	CHCP	-0.47	CFUR	-0.32
RIMB	-0.31	PSEU	-0.49	SCRI	-0.32
ODON	-0.33	AGLA	-0.49	CFUS	-0.36
EZOD	-0.36	DBRI	-0.49	AMIN	-0.39
AGLA	-0.37	CMEN	-0.49	RIMB	-0.43
DBRI	-0.44	THNI	-0.58	PMIC	-0.45

% variance: 14.07

7.46

5.54

B) Summer

code	f1	code	f2	code	f3
ROTI	0.73	PMIC	0.41	CALC	0.26
SCRI	0.72	GYRO	0.35	DCAU	0.21
GSPL	0.66	AMIN	0.34	COCO	0.18
DSAC	0.63	DSAC	0.31	HETE	0.18
PTRI	0.63	PDIA	0.29	CILP	0.16
GIMP	0.61	SCRI	0.28	CALY	0.15
EUTR	0.61	PTRI	0.24	THAL	0.11
CILG	0.61	CILG	0.13	GIMP	0.11
PRTP	0.60	CFUS	0.13	GYMN	0.10
NANO	0.53	CFUR	0.13	NAUP	0.10
CRYP	0.52	GSPL	0.11	PYRA	0.10
CHRY	0.52	PRTP	0.11	CMEN	0.07
GYRO	0.50	ROTI	0.10	SKCO	0.06
PMIC	0.48	PALA	0.09	RFRA	0.03
AMIN	0.46	PLEU	0.06	PMIN	0.02
PYRA	0.43	DROT	0.05	NCL	0.02
CILP	0.42	PDIV	0.05	NANO	0.02
HETE	0.40	SYRP	-0.01	MESO	0.00
CMEN	0.40	DCAU	-0.02	PQIN	0.00
PQIN	0.38	EUTR	-0.07	ROTI	-0.01
MESO	0.26	PYRA	-0.10	CRYP	-0.01
THNI	0.19	ODON	-0.10	EUTR	-0.01
CALY	0.18	RIMB	-0.11	PALA	-0.01
THAL	0.17	NANO	-0.11	PTRI	-0.04
GYMN	0.17	HETE	-0.12	CHRY	-0.04
PDIA	0.14	NAUP	-0.15	SYRP	-0.05
PMIN	0.14	CHG	-0.16	COSC	-0.06
CPEL	0.13	PMIN	-0.17	CPEL	-0.07
CHP	0.12	GIMP	-0.20	GSPL	-0.09
COCO	0.12	PSEU	-0.20	CHCP	-0.10
RFRA	0.12	CRYP	-0.21	GYRO	-0.14
COSC	0.10	PQIN	-0.22	PRTP	-0.15
SKCO	0.07	DFIB	-0.23	DSAC	-0.15
CHCP	0.04	CHLO	-0.23	LDAN	-0.20
CALC	0.04	CILP	-0.23	CILG	-0.21
LDAN	0.01	THNI	-0.25	ODON	-0.21
CHG	0.01	AGLA	-0.26	RDEL	-0.21
SYRP	0.00	COCO	-0.26	SCRI	-0.21
ODON	-0.02	CALC	-0.27	AMIN	-0.22
PDIV	-0.04	CALY	-0.27	PDIA	-0.28
PALA	-0.04	CHRY	-0.28	DROT	-0.30
DCAU	-0.04	GYMN	-0.28	PDIV	-0.31
CHLO	-0.04	CHCP	-0.33	PLEU	-0.31
NCL	-0.08	RDEL	-0.35	CHLO	-0.33
RDEL	-0.13	COSC	-0.35	CHP	-0.34
DFIB	-0.14	CPEL	-0.37	PMIC	-0.38
PSEU	-0.14	MESO	-0.41	CHG	-0.38
NAUP	-0.14	CHP	-0.44	CFUR	-0.41
CFUR	-0.15	CMEN	-0.45	AGLA	-0.45
AGLA	-0.19	LDAN	-0.47	CFUS	-0.48
CFUS	-0.20	NCL	-0.51	DFIB	-0.55
PLEU	-0.23	THAL	-0.53	THNI	-0.57
DROT	-0.26	RFRA	-0.56	PSEU	-0.59
RIMB	-0.30	SKCO	-0.61	RIMB	-0.64

% variance: 12.58

7.96

6.49

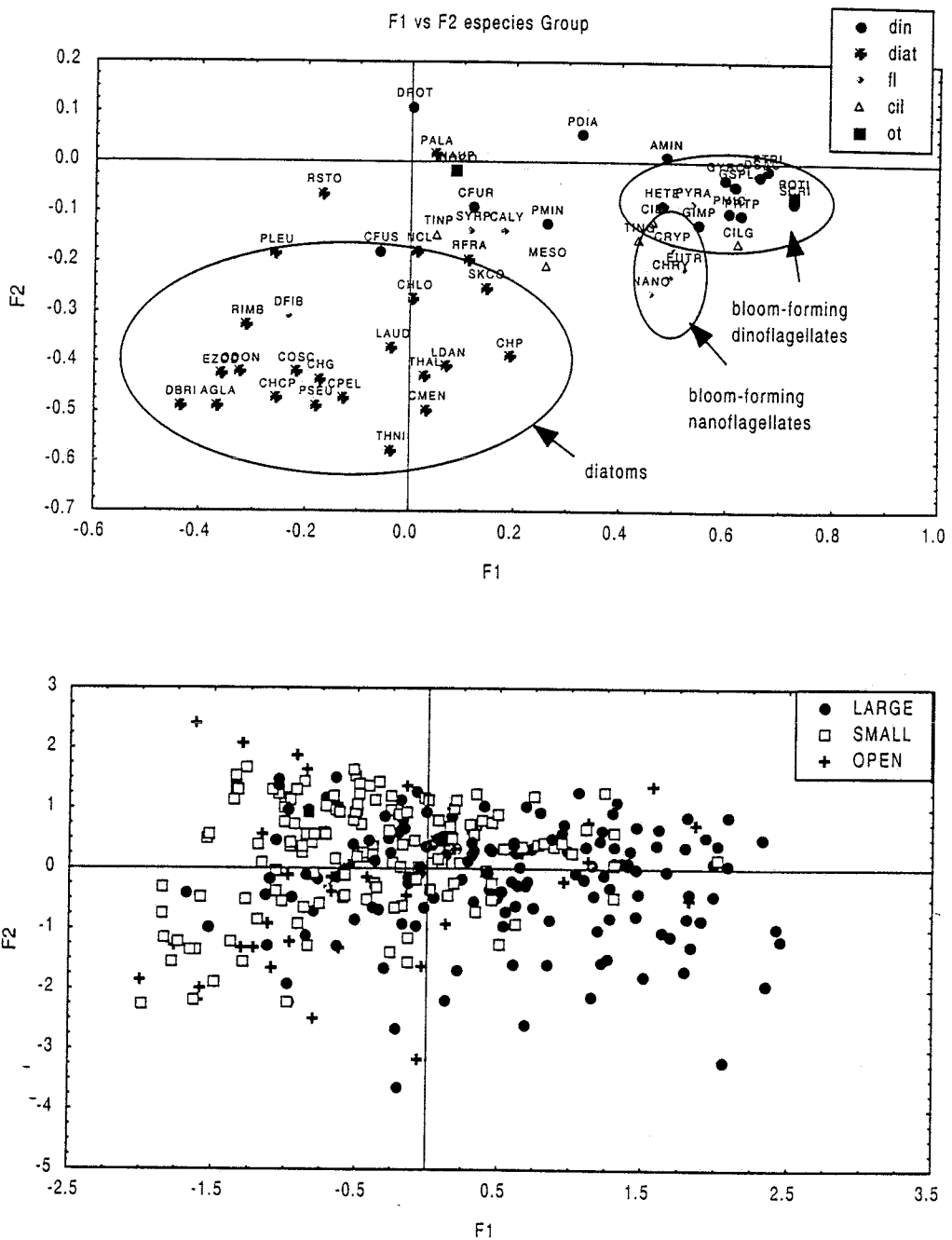


Figure 3. a) Position of the extremes of the taxon vectors in the space determined by the first and second principal components of the annual analysis. The key for identifying the codes appears in Table II. b) Value of the factor score in the space defined by the first and second principal components, with symbols according to the size of the harbour.

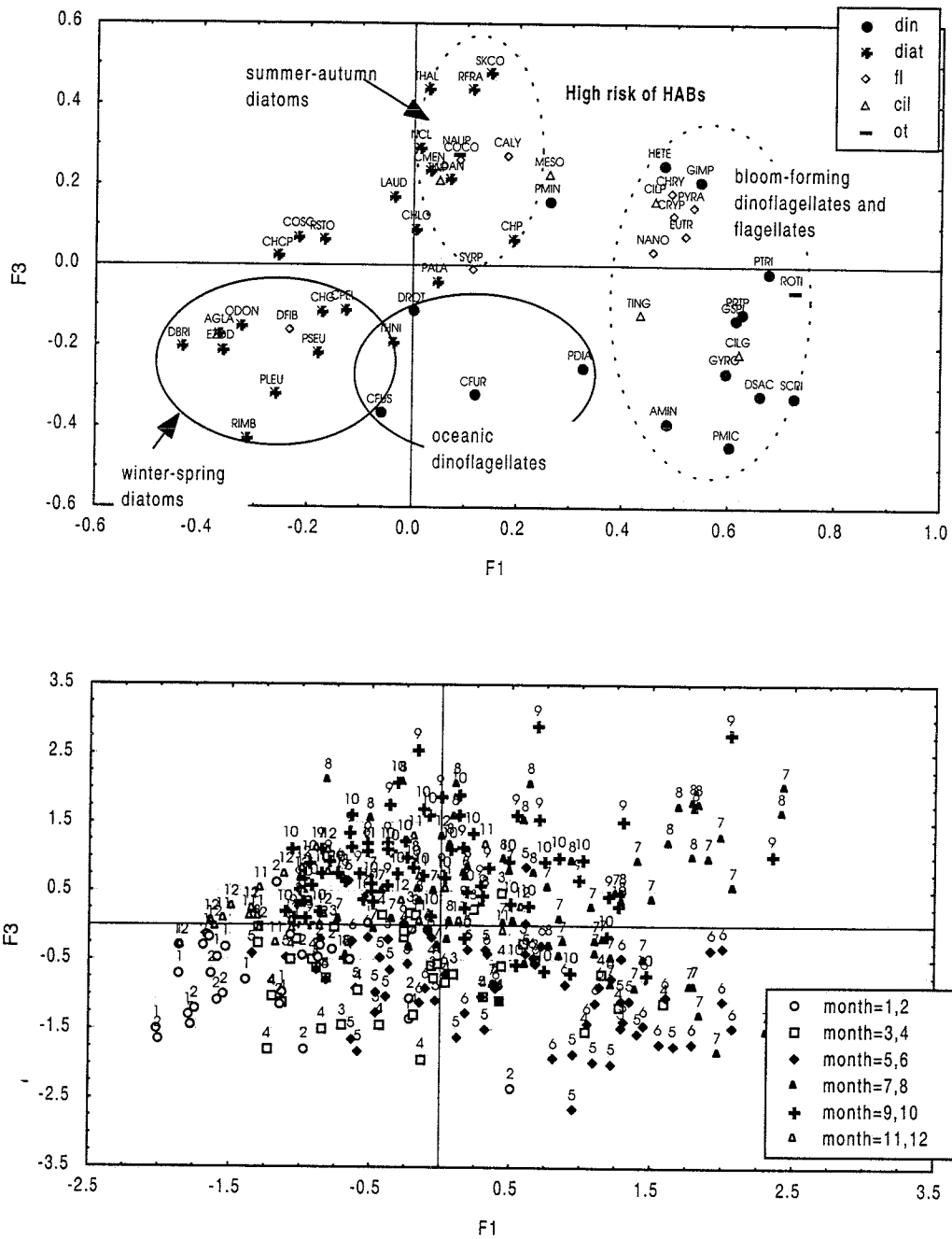


Figure 4. a) Position of the extremes of the taxon vectors in the space determined by the first and third principal components of the annual analysis. The key for identifying the codes appears in Table II. b) Value of the factor score in the space defined by the first and third principal components, with symbols and codes according to the month of the year.

Figures 3 and 4 give the spatial distribution of the species and stations defined by factors 1-2 and 1-3. Seasonal variations are represented by the space defined by factors 1 and 3 (Fig. 4b). The stations sampled during the winter months appear to the left and those sampled in spring-summer to the right of factor 1. Factor 1 gives a positive correlation with temperature, the number and richness of species, the diversity index, the abundance of total organisms and the four algal groups, and the surface area of the harbour (Fig. 3b, Table VIa). Factor 1 reflects the high or low temperature conditions associated with dinoflagellates-nanoflagellates or diatoms respectively. Factor 2 shows a negative correlation with the number and richness of species, abundance and diversity. Factor 2 could be considered as a “phytoplankton poor-rich” axis. Situations of richness are thus associated with diatoms.

Table VI. Correlation between the first three factors of the main components analysis and the other variables considered: temperature (TEMP), salinity (SAL), number of species (S), number of individuals (N), Margalef’s species’ richness index (D), Shannon Wiener diversity index (H), sum of dinoflagellates (sDIN), diatoms (sDIA), nanoflagellates (sNAN), coccolithophorids (sCOC) and surface area of the harbour LOG(SUP), for the a) annual, b) summer analyses.

A) Annual

N: between 248-327

FACTOR	TEMP	SAL	S	D	H	N	sDIN	sDIA	sNAN	sCOC	LOG(SUP)
F1	0.55**	-0.14*	0.51**	0.36**	0.14**	0.45**	0.76**	0.18**	0.52**	0.12*	0.37**
F2	0.07	0.08	-0.71**	-0.68**	-0.36**	-0.22**	-0.12*	-0.58**	-0.28**	-0.10	-0.25**
F3	0.29**	0.02	0.01	-0.03	-0.07	0.14*	-0.13*	0.16**	0.05	0.17**	0.12*

B) Summer

N: between 150-175

FACTOR	TEMP	SAL	S	D	H	N	sDIN	sDIA	sNAN	sCOC	LOG(SUP)
F1	0.43**	-0.19*	0.62**	0.42**	0.20**	0.45**	0.77**	0.20*	0.55**	0.1	0.54**
F2	-0.24**	0.00	-0.46**	-0.40**	-0.15*	-0.18*	0.27**	-0.58**	-0.10	-0.24**	-0.20*
F3	0.55**	-0.02	-0.42**	-0.46**	-0.22**	-0.01	-0.14	-0.21**	0.03	0.11	-0.07

*: significant, $p < 0,05$

** : significant,
 $p < 0,001$

The different functional groups of phytoplankton that have been characterised according to the structure of the community, are *bloom-forming dinoflagellates* (including toxic dinoflagellates), *oceanic dinoflagellates*, *bloom-forming nanoflagellates*, *summer-autumn diatoms and winter-spring diatoms* (figures 3a and 4a). Situations in summer are characterised by the presence of dinoflagellate and nanoflagellate blooms and a relative

poverty of species, compared to spring-winter and summer-autumn situations that are characterised by a community of diatoms with a great richness of species.

It is therefore the seasonal pattern that dominates the community and not a spatial one, given the sampling scheme. By indicating the size of the harbour in the space defined by factors 1 and 2 (Figure 3b), a trend can be observed whereby the larger surface-area harbours mostly appear to have a predominance of dinoflagellates and nanoflagellates in summer situations, with the smaller surface-area harbours to the left (situations dominated by diatoms). The large harbours would be dominated by the group of *bloom-forming dinoflagellates* and *nanoflagellates* in summer situations (high temperatures) and thus with a relatively low diversity of species compared to the small harbours, which are mostly located in winter situations characterised by the diatom group and a more diversified community (with a lower phytoplankton density).

Given that the spatial pattern is to some degree masked by seasonal variations, a second PCA was carried for just the months of summer (May-September), and choosing the species >9% samples for these months (175 samples and 54 species). The first three factors account for 27.1% of the variance ($f_1=12.6\%$, $f_2=8.0\%$ and $f_3=6.5\%$). The first factor (Table Vb and fig 5a) shows a positive correlation with the species that form blooms in the summer (from any of the groups). Thus, there are bloom-forming or accompanying dinoflagellates (*Sripsiella* spp., *G. impudicum*, *P. triestinum*, *G. splendens*, *D. sacculus*, *Proroperidinium* spp.), and also flagellates (*Eutreptiella gymnastica*), nanoflagellates, ciliates and rotifers. The species that correlate negatively with this factor are diatoms such as *Rhizosolenia* cf. *imbricata*, *Pleurosigma* sp., *Asterionellopsis glacialis*, *Pseudo-nitzschia* spp., *Guinardia delicatula*; oceanic dinoflagellates (*Phalacroma rotundatum*, *C. fusus*, *C. furca*) and *D. fibula*. These species are often detected in low concentrations and in samples with few species (poor samples). Most diatoms play an insignificant role in defining this axis. The second factor (Table Vb) clearly separates the dinoflagellates (*P. micans*, *Gyrodinium* spp., *A. minutum*, *D. sacculus*, *P. diabolium*, *Scripsiella* spp., *P. triestinum*) on the positive side, from diatoms (*S. costatum*, *Dactyliosolen fragilissimus*, *Thalassiosira* sp., *Cylindrotheca closterium* (+ *Nitzschia longissima*), *Leptocylindrus danicus* (+ *minimus*), *Cyclotella* sp., small *Chaetoceros* spp., *Cerataulina pelagica*) that are on the negative side. Table VIb gives the correlations of the three factors with the different parameters analysed.

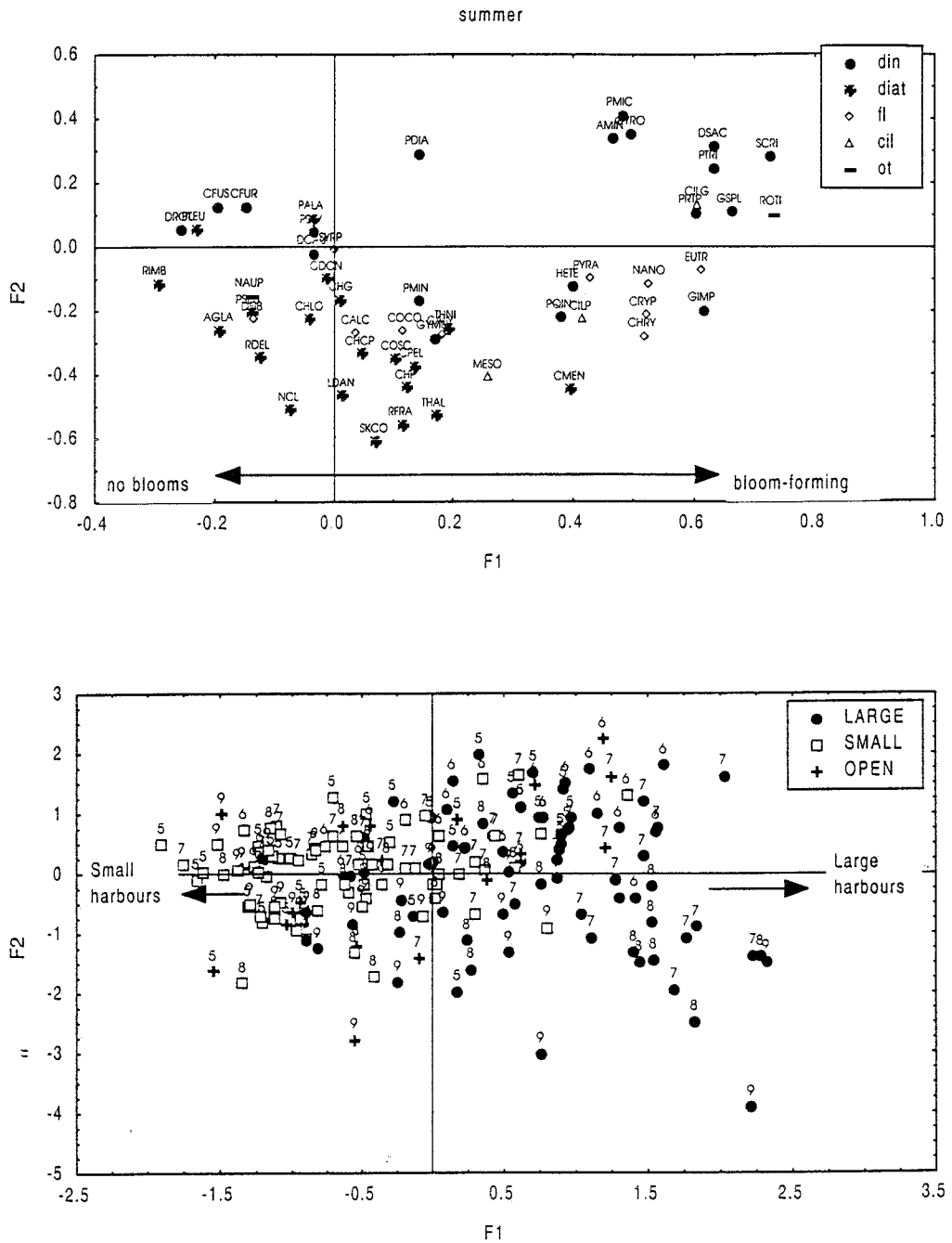


Figure 5. a) Position of the extremes of the taxon vectors in the space determined by the first and second principal components of the summer analysis. The key for identifying the codes appears in Table II. b) Value of the factor score in the space defined by the first and second principal components, with symbols according to harbour size and codes according to the month of the year.

Mention should be made of the high correlation of factor 1 with the abundance of dinoflagellates and nanoflagellates, and the surface area of the harbour. In relation to the space defined by these two axes (Figure 5b), large harbours (Arenys, Barcelona, Vilanova and St. Carles) are separated from small harbours (Roses, Palamós, Blanes and Coma-ruga). There is thus a spatial pattern defined by harbour size. Dinoflagellate proliferations take place during the summer (above all in June-July) and mainly in the large harbours. The flagellates also prefer large harbour and occur in maximum concentrations during the months of July and August. The small harbours are characterised by the presence of more oceanic types of dinoflagellates and diatoms. The space defined by factors 1 and 3 once again represents the seasonal variation (the results are not shown).

Discussion

The results that are presented show that the structure of the community in confined areas of the studied area is mostly governed by a seasonal factor. This behaviour has already been described for plankton communities in coastal zones of the same area of study (Margalef and Ballester, 1967; Margalef, 1969; Establier *et al.*, 1986; Delgado *et al.*, 1992; Mura *et al.*, 1996; Vaqué, 1996; Cebrián and Valiela, 1999; Shauer *et al.*, 2000; Calbet *et al.*, 2001) and in the open sea (Estrada, 1999). There are both year-round species and seasonal species (Table IV). Bloom-forming dinoflagellates, such as *P. triestinum*, *P. micans*, *Scrippsiella* spp., *Gyrodinium* cf. *spirale*, occur all year round with concentrations that are much higher during the months of spring and summer (around twice as high). Other dinoflagellates like *Alexandrium catenella*, *Gymnodinium splendens*, *Gyrodinium corsicum*, *Gyrodinium impudicum*, *Praetjella medusoides*, *Prorocentrum mexicanum*, small *Protoberidinium* spp. have a marked seasonal behaviour. Diatoms that are present all year round are *Asterionellopsis glacialis*, *Cylindrotheca closterium*+*Nitzschia longissima*, *Leptocylindrus danicus* (+ *minimus*), *Skeletonema costatum*, *Thalassionema nitzschioides*. On the other hand, the different species of *Chaetoceros*, *Dirylum brightwellii*, *Eucampia zodiacus*, *Rhizosolenia* cf. *imbricata*, *Thalassiosira* sp., have a more seasonal character.

Apart from specific cases like the *G. corsicum*, dinoflagellate that only occurs in the harbour of St. Carles (on the southern edge of the study area), no latitudinal spatial pattern has been found to occur with regard to species composition. The entire coastline (including 8 harbours and one beach as sampling points) is characterised, in general terms, by the functional groups

of phytoplankton that reflect the successive changes associated with the seasonal cycle. Phytoplankton species in confined waters of the Catalan coast (NW Mediterranean) tend to group according to their taxonomy; The functional groups resulting from the multivariate analysis are *bloom-forming dinoflagellates* (which include the toxic dinoflagellates), *oceanic dinoflagellates*, *bloom-forming nanoflagellates*, *summer-autumn diatoms* and *winter-spring diatoms*. Most species (including the bloom-forming dinoflagellates) are present at all of the stations, whether they are in confined (the 8 harbours) or open waters (the beach at Badalona). The frequency and abundance of potentially toxic species (dinoflagellates and diatoms) and bloom-forming dinoflagellates is clearly apparent (Table III).

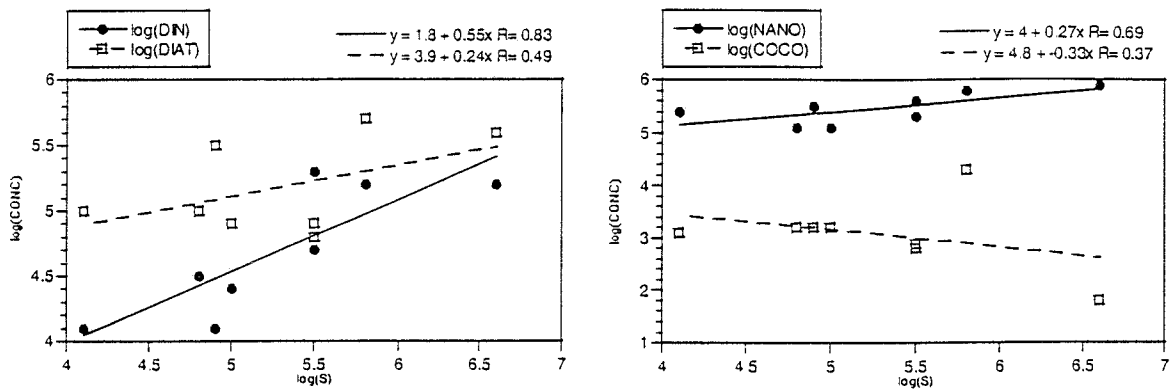


Figure 6. Correlation between the annual average abundance of the four algal groups (dinoflagellates, diatoms, nanoflagellates and coccolithophorids) and harbour surface area.

In certain situations, one harbour may differ from the rest of the sampling stations as a result of a bloom formation by a specific species (e.g. *Alexandrium minutum*). Previous papers on the same study area have described that confined areas are characterised by the recurrence of small-scale blooms by specific dinoflagellate species (Vila *et al*, 2001a). According to the multivariate analysis of the community during the summer (figure 5), it can be seen that quasi-monospecific bloom situations (basically of dinoflagellates, but also of nanoflagellates and certain diatoms) occur mainly in the large harbours. A positive correlation has been found between the size of the harbour and the average annual dinoflagellate concentration (figure 6). It seems then clear that the key factor for blooms in the study area (which is almost tideless) is the degree of the water confinement. In the study area, large harbours are the places

characterized by high water residence times, which at the same time differentiates them from the rest of the coastline. Furthermore, it should be made clear that this is the average situation and that particular situations may be conditioned by other factors (meteorology, hydrodynamics, etc.) and the interannual variability. An example during the study period occurred at the Badalona beach where high concentrations of the dinoflagellate *Gyrodinium impudicum* (a species that not only blooms in confined waters but also spreads to open coastal waters) were detected.

The fact that dinoflagellate blooms have been found in large harbours agrees with Margalef's Mandala (Margalef, 1978), which places them in situations of low turbulence and high nutrient concentrations. Smayda (2001) found a gradient in the life-form properties of dinoflagellate bloom taxa according to a continuum of progressively decreasing nutrient levels and the increasing in the water masses mixing and the deepening of the stratified layer (habitat types). The dinoflagellate bloom taxa that characterise the confined waters of the Catalan coast (NW Mediterranean) correspond to habitats I (small to intermediate-sized *gymnodinioid* species and *A. minutum*) and habitat II (various intermediate sized peridinians, including *Heterocapsa triquetra* and *Scrippsiella trochoidea*, and proro-centroids, including *Prorocentrum micans* and *Prorocentrum minimum*) of this gradient, defined by Smayda (2001).

Diatom proliferations have been described associated to situations of high turbulence and low nutrient concentrations (Margalef, 1978). Nevertheless, the results indicate that bloom-forming diatoms could also be situated on a similar gradient to that proposed for the dinoflagellates (Smayda, 2001). *Summer-autumn diatoms* (e.g. *Skeletonema costatum*, *Leptocylindrus danicus*, *Chaetoceros* spp. small) are a group differentiated by the multivariate analysis performed that coexists with the *bloom-forming dinoflagellates* (fig. 4a). This implies a common degree of response to the same environmental conditions that could characterise situations of HAB risk occurrence (represented by dotted lines in fig. 4).

In conclusion, 1) The phytoplankton community in confined waters of the Catalan coast (NW Mediterranean) is governed by the seasonal component, 2) The phytoplankton community is the same in waters that are more or less confined, with the difference being in cell densities. Confined waters are characterised by higher concentrations of bloom-forming dinoflagellates than less confined waters, except for specific species like *G. impudicum* and *Noctiluca*

scintillans (a species not dealt with in this study), which are capable of forming mesoscale blooms. The groups of dinoflagellates, which are most responsible for HABs, proliferate in large harbours and during the summer months. It is these situations (large harbours and during the summer) that have the highest risk of HABs.

El que sabem és com una gota d'aigua;
el que ignorem és com l'oceà
I. Newton

CLOENDA

Respostes i preguntes

Al Mediterrani, considerat oligotròfic en la seva globalitat, es donen situacions d'eutròfia en zones costaneres, com desembocadures de rius, i en aigües confinades, com llacunes, badies i ports. És en aquests ambients costaners i confinats on es dona la major part de les proliferacions algals nocives. L'elaboració d'aquest treball ens ha permès determinar quines són les espècies fitoplanctòniques potencialment nocives presents a la nostra costa (vegeu taula I, figura 1). El mostreig ens ha permès conèixer la seva dinàmica estacional i el patró de distribució al llarg de la costa catalana. A part de l'interès ecològic en si, saber les èpoques i les àrees concretes que tenen un major risc de patir PAN és particularment important pel fet de tractar-se d'espècies que creen problemes i, per tant, pels possibles efectes negatius que poden tenir sobre la indústria del marisqueig, sobre la pesca i sobre el turisme. Dins del punt de vista de la toxicitat, una espècies són tòxiques a elevades concentracions (gènere *Alexandrium*), mentre que d'altres amb poques cèl·lules poden ser nocives (gènere *Dinophysis*).

Hi ha espècies que són presents al llarg de tota la costa, com l'*Alexandrium minutum*. D'altres com la *Gyrodinium corsicum* només es detecta als Alfacs, on arriba a fer proliferacions d'uns quants milions de cèl·lules per litre. Hi ha espècies que fan *blooms* extensos (*G. impudicum*, *A. catenella*, *Pseudo-nitzschia* spp.), i d'altres, *blooms* confinats (*A. minutum*). *Gyrodinium impudicum* prolifera generalment a la costa central-sud, igual que *Alexandrium catenella*. Però *G. impudicum*, en determinades situacions, fa proliferacions massives ($> 10^6$ cèl·lules·L⁻¹, amb descoloració de l'aigua) que arriben a afectar tota la costa, mentre que els *blooms* de mesoescala d'*A. catenella* ($< 10^5$ cèl·lules·L⁻¹) mai no assoleixen concentracions tan elevades.

Hi ha espècies que fan proliferacions al llarg de tot l'any (*A. minutum*), i d'altres només en una època determinada (*A. catenella*, *A. taylori*, *G. impudicum*, *G. corsicum*, *Prorocentrum mexicanum*, *Phalacroma rotundatum*). *A. minutum* és un cas curiós, ja que és present a la costa catalana durant tot el cicle anual, però presenta un patró estacional ben definit en àrees concretes. Així, per exemple, a l'Estartit fa les proliferacions durant els mesos càlids, a Arenys de Mar durant els mesos de març-abril i a la badia dels Alfacs durant els mesos freds (gener-abril).

En aquest estudi s'han detectat altres espècies potencialment tòxiques o nocives (taula II), però en baixes concentracions.

Taula I. Principals espècies formadores de PAN a la costa catalana.

Espècie	Hàbitat*	Toxicitat potencial o nocivitat	Toxicitat* a l'àrea d'estudi	Conc. màxima (cells·L ⁻¹)	Època del 'bloom'	Tipus de 'bloom'
<i>A. catenella</i>	plàncton	PSP	positiva	> 10 ⁶	maig-set.	local + extens
<i>A. minutum</i>	plàncton	PSP	positiva	> 10 ⁶	tot l'any	local
<i>A. taylori</i>	plàncton	descoloració	negativa	> 10 ⁶	juliol-set.	local
<i>D. caudata</i>	plàncton	DSP	?	10 ³	juliol-agost	local
<i>D. sacculus</i>	plàncton	DSP	positiva	10 ⁴	maig-set.	local + extens?
<i>G. corsicum</i>	plàncton	ictiotòxic	positiva	> 10 ⁶	nov.-abril	local
<i>G. impudicum</i>	plàncton	descoloració	negativa	> 10 ⁶	juliol-agost	local + extens
<i>Ostreopsis</i> sp.	bentos + plàncton	DSP + ciguatoxines?	positiva	10 ^{4*}	primavera (bentos)	local
<i>Ph. rotundatum</i>	plàncton	DSP	?	10 ³	maig-juny	local
<i>P. mexicanum</i>	plàncton + bentos	DSP	?	10 ⁴	juliol-nov.	local
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	plàncton	ASP	negativa	> 10 ⁶	primavera i tardor	local + extens

Hàbitat*: de les cèl·lules vegetatives (en negreta, l'hàbitat on l'espècie hi és més abundant)

Toxicitat*: mesurada per bioassaig amb ratolí

10^{4*} al plàncton; al bentos, 10⁵ cells·g⁻¹ pes fresc macroalga

Taula II. Espècies potencialment tòxiques o nocives a la costa catalana, detectades en baixes concentracions en aquest estudi.

Espècie	Hàbitat*	Toxicitat potencial o nocivitat
<i>Coolia monotis</i>	bentos	DSP + ciguatoxines?
<i>D. acuta</i>	plàncton	DSP
<i>D. hastata</i>	plàncton	DSP
<i>D. cf. ovum</i>	plàncton	DSP
<i>D. tripos</i>	plàncton	DSP
<i>P. medusoides</i>	plàncton	mucus
<i>N. scintillans</i>	plàncton	descoloracions
<i>P. lima</i>	bentos	DSP + ciguatoxines?

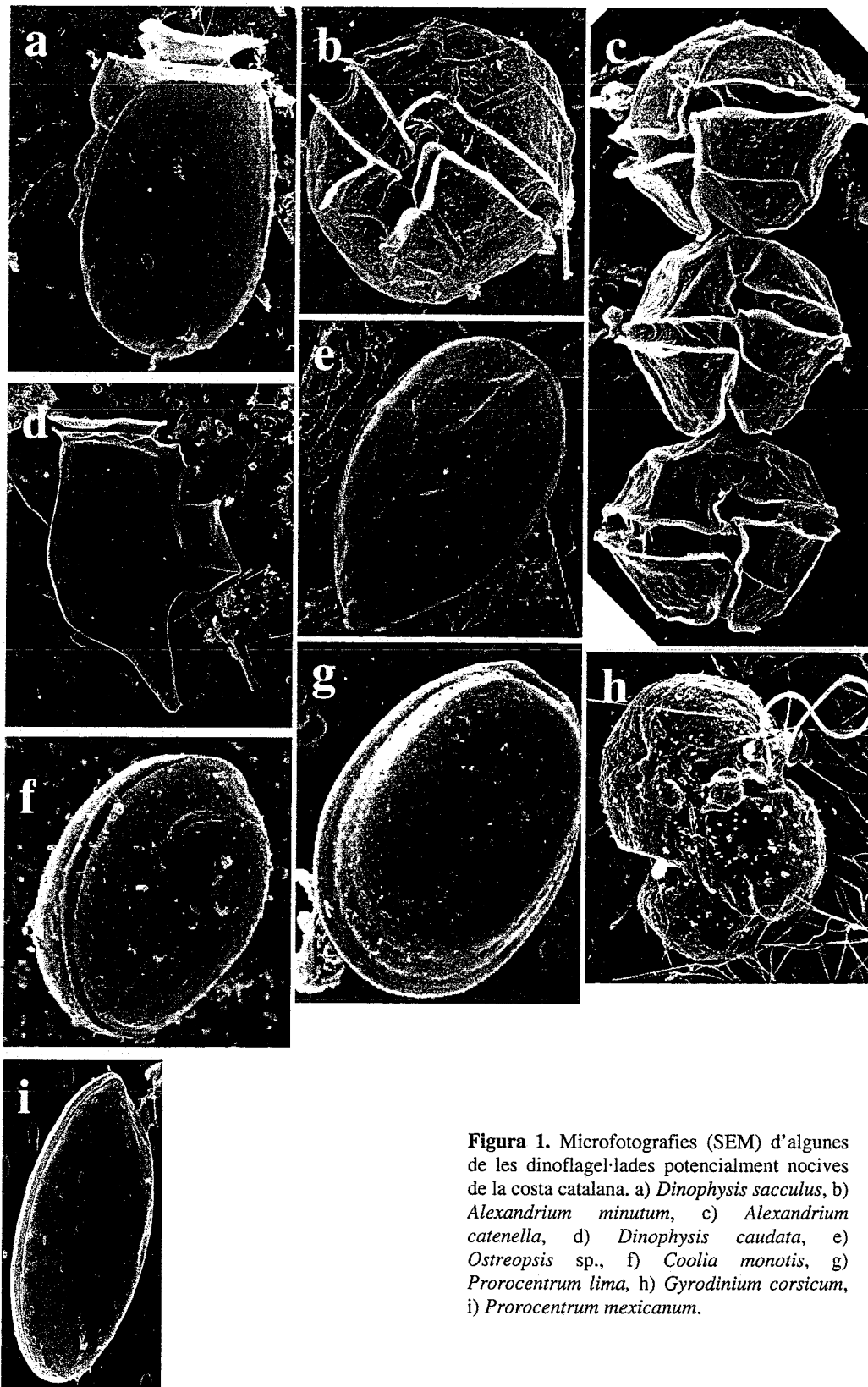


Figura 1. Microfotografies (SEM) d'algues de les dinoflagel·lades potencialment nocives de la costa catalana. a) *Dinophysis sacculus*, b) *Alexandrium minutum*, c) *Alexandrium catenella*, d) *Dinophysis caudata*, e) *Ostreopsis* sp., f) *Coolia monotis*, g) *Prorocentrum lima*, h) *Gyrodinium corsicum*, i) *Prorocentrum mexicanum*.

L'estratègia de mostreig proposada ha permès detectar un nombre i una freqüència elevats de proliferacions algals, bàsicament dinoflagel·lades, a la costa catalana. Aquest fet permet validar la hipòtesi de treball (la d'adaptar el *mandala* de Margalef a les aigües costaneres mediterrànies per tal de detectar les proliferacions de dinoflagel·lades, vegeu l'apartat d'Objectius i contingut de la tesi). Després d'aquest treball s'interpreta l'aparició de les proliferacions de dinoflagel·lades en àrees confinades com el resultat d'una sèrie de particularitats que presenten aquests organismes (formació de cists de resistència), que, juntament amb el seu comportament específic (natació activa, migració vertical i agregació), els permet assolir concentracions elevades en aigües on les pèrdues per advecció estan molt disminuïdes i els temps de residència de l'aigua són elevats. La presència de cists de resistència com a part del cicle de vida de les dinoflagel·lades fa que una vegada un port ha estat colonitzat per una dinoflagel·lada, hi hagi una probabilitat elevada que torni a fer proliferacions.

Hi ha, però, els organismes bentònics que escapen al sistema de mostreig adoptat. El fet de trobar concentracions elevades d'aquests organismes a la columna d'aigua com a conseqüència de la ressuspensió després de forts temporals va portar a un replantejament del mostreig. Al incorporar el mostreig d'organismes epífits, es van trobar concentracions elevades de l'associació formada bàsicament per *Ostreopsis* sp., *Coolia monotis* i *Prorocentrum lima*. Es troben bàsicament com a epífits de macroalgues i les seves densitats màximes es detecten durant els mesos càlids.

Tot i que les dinoflagel·lades són les responsables principals de produir PAN, s'han detectat proliferacions de diatomees potencialment nocives del gènere *Pseudo-nitzschia*. Són presents al llarg de tota la costa i proliferen durant els mesos de primavera i de tardor, tot i que a la zona del delta de l'Ebre les proliferacions es detecten al llarg de tot l'any.

Però la solució d'uns problemes determinats comporta l'aparició de nous interrogants, generalment molt més concrets. Això indica que, de mica en mica, anem avançant i anem ampliant el nostre coneixement. Creiem interessant plasmar aquí algunes de les noves preguntes que ens hem formulat. Algunes són preguntes molt concretes referents a la nostra àrea d'estudi, i si es desconeix la resposta és perquè s'ha treballat poc en aquest sentit. D'altres són més generals (en el àmbit de les PAN), i formen part de les preguntes que de moment estan sense resposta a nivell mundial.

Hem trobat una sèrie de regularitats en els *blooms* de fitoplàncton. Però com són de fiables aquestes regularitats? La dinàmica del fitoplàncton és molt ràpida a escala humana, les poblacions poden canviar substancialment en qüestió de 15 dies. Això implica que en anys o dècades es poden detectar i apreciar introduccions, successions i substitucions d'espècies. Com són de freqüents les **introduccions i substitucions** d'unes espècies per unes altres? Els patrons de regularitats que hem trobat (p. ex.: l'expansió d'*A. catenella* durant els anys 1996-99) segueixen vigents o bé ja han passat a la història? Alguns patrons de regularitat s'han mantingut constants al llarg d'aquests anys (p. ex.: proliferació d'*A. minutum* a Arenys de Mar), però d'altres semblen que estan canviant: *A. catenella* i *G. corsicum* s'han vist aturats després d'experimentar una expansió el primer, i d'assolir elevades concentracions a la badia dels Alfacs el segon, durant uns pocs anys. Canvien realment o formen part de la variabilitat esperable entre anys?

Aquí potser toca entrar en el tòpic que surt en tots els congressos de fitoplàncton tòxic: hi ha més *blooms* o és que ens els mirem més? La nostra experiència, com a grup, ens ha fet veure que en 12 anys de recomptes rutinaris de fitoplàncton a les badies del delta de l'Ebre i 6 anys a la resta de la costa hi ha hagut noves «adquisicions» de fitoplàncton al litoral català. El *G. corsicum* va ser detectat per primer cop a la badia dels Alfacs a l'hivern de 1993-94, després de cinc anys de monitoratge setmanal. L'*Alexandrium taylori* es va detectar per primera vegada a la Fosca a l'estiu de 1994, però «les veus del poble» fan pensar que ja feia anys que hi era. L'*Alexandrium catenella* va aparèixer al port de Barcelona a l'agost de 1996, al cap de poc més d'un any d'iniciar el monitoratge setmanal (quinzenal a l'hivern). Però les noves «adquisicions» es queden o tornen a retrocedir? Per què a l'hivern de 1999-2000 les densitats assolides pel desenvolupament de *G. corsicum* van ser inferiors a les dels hiverns anteriors? Per què gairebé no hi ha hagut *G. corsicum* a l'hivern 2000-01? I l'*A. catenella*? Per què després d'una expansió al llarg de la costa (anys 1996-1999), amb proliferacions massives no tan sols en diferents ports sinó també en aigües lliures, a l'estiu de 2000 només ha proliferat al port de Tarragona? I a Barcelona, on a l'estiu de 1999 es van assolir densitats superiors a 10^5 cells·L⁻¹, per què tan sols vam detectar concentracions inferiors a 10^3 cells·L⁻¹ i només de manera esporàdica?

Un dels riscos d'introducció de noves espècies és a través dels **productes d'aquicultura** i també per via de l'**aigua de llast dels vaixells de càrrega**. Les espècies tòxiques o nocives, no solament del fitoplàncton sinó també organismes com macroalgues, meduses i/o peixos exòtics, han estat les que han cridat l'atenció als experts dels diferents àmbits del risc de noves introduccions. Tot i que, l'alarma, l'han disparat aquests organismes causants de problemes, les introduccions són evidentment a tots els nivells. Desconeixem els efectes que pot tenir aquesta «globalització» en el camp de l'ecologia marina. De moment, una espècie com l'*A. catenella*, que mai no havia produït problemes al Mediterrani, ara és present i fa *blooms* a les costes catalana i valenciana i a la llacuna de Thau (França).

Estem **artificialitzant** el litoral: recordem que a la costa catalana hi ha més de **40 ports** i un total de **204 espigons (més de 200 km)**. Tal com hem vist, això crea el nínxol adequat perquè tinguin lloc proliferacions de dinoflagel·lades. A més a més, estem afavorint (per via dels ports i de l'aigua de llast) l'entrada d'organismes. Recordem que a Catalunya els ports de Tarragona i de Barcelona són dels més importants de la riba mediterrània.

Les proliferacions localitzades en aigües confinades estan lligades a fenòmens de mesoscala o de gran escala? El fet que una espècie concreta iniciï el *bloom* en diferents ports en un moment determinat vol dir que l'espècie està al llarg de tota la costa en molt baixes concentracions i només farà els *blooms* en els llocs amb unes característiques adequades, com és el confinament? O bé cada port funciona independentment, i els que tenen l'inòcul (en forma de cists de resistència) fan el *bloom* coincidint en el temps perquè tenen un rang de condicions ambientals molt ben marcat, o bé un rellotge intern que es dispara en tots els *blooms* en el mateix moment? Per què l'*Alexandrium minutum* fa *blooms al mateix temps* al port d'Arenys de Mar i al port de Siracusa (a Sicília)? Però d'altra banda, per què l'*A. minutum* fa *blooms* a la primavera a Arenys de Mar, però als mesos freds a la badia dels Alfacs i durant l'estiu a l'Estartit?

Segons el **mandala de Margalef**, les diatomees fan les proliferacions a la primavera i a la tardor quan coincideixen dos factors: l'entrada d'energia externa i els nutrients. En confinar les aigües dins dels ports estem reduint aquesta entrada d'energia externa. Molts ports de Catalunya i la costa oberta pròxima a terra tenen en general nutrients suficients per suportar densitats elevades de biomassa al llarg de tot l'any (Masó *et al.*, 2000; Garcés *et al.* 2001). Per què se segueix complint el *mandala* i bàsicament tenim els *blooms* de diatomees a la

primavera-estiu i a la tardor? Per què no hi ha *blooms* de diatomees durant els mesos de novembre-desembre? Tan important és la disminució d'irradiació durant els mesos d'hivern?, és la turbulència de l'aigua?, són les pluges?, o és la temperatura? Per obtenir una resposta, cal plantejar experiments en aquest sentit.

També segons el *mandala* les dinoflagel·lades petites, formadores de mareas roges, proliferarien en condicions de baixa agitació i de concentracions elevades de nutrients. Condicions que si bé de forma natural no són gaire freqüents (només en badies, en llacunes...), de forma artificial les estem incrementant en confinar l'aigua. Actualment tenim, de mitjana, un port cada 10 km lineals de costa. Si creem hàbitats susceptibles de ser colonitzats per dinoflagel·lades (gràcies a les seves habilitats particulars comentades més amunt), tindrem un elevat potencial d'inòculs al llarg de la costa. Això afavoreix la **proliferació** i **dispersió** de les espècies una vegada han estat introduïdes en una àrea. Alhora amb els espigons i les parets dels ports estem creant més superfícies que seran colonitzades per macroalgues, i per dinoflagel·lades **epífites** de macroalgues, com ara *Ostreopsis* sp., *Coolia monotis* i *Prorocentrum lima*? Aquesta dispersió també es veu afavorida per la gran quantitat de **plàstics** que suren per les aigües. A les platges de Catalunya es recullen cada estiu 520 m³ de residus sòlids flotants, el 40% dels quals són plàstics (dades cedides per l'ACA). S'ha vist que aquests plàstics porten adherida una gran quantitat d'organismes fitoplanctònics, alguns de potencialment nocius (*Ostreopsis*, cists d'*A. taylori*...) (Masó *et al.*, 2001). Tot això ens confirma un marc de possibilitats per al fitoplàncton i el fitobentos que es podria assimilar amb el que van representar per a moltes espècies d'artròpodes terrestres les modificacions del territori produïdes per l'expansió de l'agricultura extensiva i dels monocultius: l'aparició de les **plagues**. S'estableix doncs, un paral·lelisme entre les PAN i les plagues.

Al llarg d'aquests anys s'ha dissenyat un sistema de monitoratge que permet detectar els *blooms* des del seu inici. Actualment en molts treballs de recerca es discuteix sobre la falta de personal entrenat per fer recomptes de fitoplàncton, amb capacitat per discriminar espècies molt semblants. Dins del món del monitoratge això arriba a la seva màxima expressió, ja que és crucial saber distingir un organisme tòxic d'un altre que no ho és. Això requereix hores i hores de microscopi. Amb el temps, la creació de **sèries temporals llargues** permetrà determinar l'increment o el decrement de determinades espècies i veure tendències, recurrències... En última instància l'objectiu és arribar a la modelització de *blooms* per tal

d'arribar-los a **predir**. De fet, alguns *blooms* ja són previsible perquè són recurrents (Smayda, 2001), però en la majoria dels casos això encara queda lluny, ja que els *blooms* són el resultat de múltiples interaccions, les degudes a les pròpies estratègies i fisiologia dels organismes (cicles vitals, comportament, taxes de creixement) i a les interaccions entre organismes (competència, depredació, parasitisme), condicions ambientals, químiques, físiques i condicions meteorològiques. Cada vegada tenim més mitjans per mesurar i registrar condicions ambientals, però paradoxalment, la base que és el reconeixement dels organismes està en els **taxonoms**, que són cada vegada més escassos.

Una de les coses que se'ns critiquen sempre als qui treballem amb organismes tòxics és que no tenim en compte la comunitat acompanyant. Què en sabem, de la **comunitat de fitoplàncton** que acompanya les espècies tòxiques? Cal comptar-la sempre? És realment interessant la informació que aporta la comunitat acompanyant? Cal valorar la relació informació útil/temps i decidir si es prefereix disposar d'aquestes dades o bé dedicar el temps a tenir informació més àmplia de les mateixes espècies tòxiques. Pensem que qualsevol de les opcions és igualment legítima; de fet, és un cas particular més de l'eterna disjuntiva entre mirar poques coses en detall o moltes a l'engròs. L'escullir-ne una o altra dependrà de la l'objectiu plantejat. Pel control i vigilància de PAN, la prioritat és tenir una bona cobertura espaciotemporal de les espècies nocives. Si el que es vol és fer un estudi sinecològic es pot concentrar l'estudi en un espai i temps més reduït, però s'haurà de tenir en compte tota la comunitat.

En un moment determinat, hi ha la mateixa **composició de fitoplàncton al llarg de tota la costa?**, o bé la composició és molt diferent d'unes estacions a unes altres? Hem vist que el factor temporal té una gran importància. Així, en un moment determinat, s'assemblen més les estacions entre si, que una mateixa estació en diferents moments del cicle anual. Aquí topem amb un problema clàssic d'ecologia general, com és el de definir una comunitat fitoplancònica a partir d'un conjunt d'organismes que estan en un medi canviant i sense delimitació física clara de la resta de les comunitats.

En aquest camp queda molta feina per fer, i tota molt interessant. És important estudiar casos concrets de l'associació d'espècies que acompanyen les tòxiques al llarg d'un *bloom*, i determinar si la presència d'aquella comunitat ens pot avisar d'unes condicions ecològiques idònies perquè la tòxica també faci el *bloom*. Que el faci o no dependrà de l'inòcul, de les

habilitats particulars de l'organisme (cicle de vida amb la formació de cists temporals o de resistència; comportament, capacitat d'agregació horitzontal o per migració vertical), de la competència amb les altres espècies fitoplànctòniques i de la pressió a què estan exposades per part de depredadors i d'infeccions, a part de les condicions físiques, químiques i meteorològiques, i molt possiblement també de l'atzar.

Després d'aquest treball se'ns planteja una sèrie de preguntes concretes en un àmbit que va més enllà de la pura ciència, i entra en relació amb els camps de la salut pública, de l'economia i de la repercussió social directa. Se seguirà expandint l'*A. catenella*? Les proliferacions de mesoscala, com la del *G. impudicum*, vénen de dins dels ports, s'originen en aigües obertes o bé són ambdós factors que se solapen? Per què dins la comunitat d'epífits tenim *Ostreopsis*, *P. lima* i *Coolia*, però en canvi no hi ha *Gambierdiscus* (principal responsable de la ciguatera)? És que hi ha un gradient latitudinal? La dinoflagel·lada *G. catenatum* (productora de toxicitat PSP) que és present al mar d'Alborán, arribarà aviat a Catalunya? I d'altres espècies tòxiques, com la *G. breve*, la *Pfiesteria* o la bentònica *Gambierdiscus*, hi arribaran?

Les respostes les tenim al mar: és qüestió d'anar-hi, agafar mostres i immernir-nos en aquest món microscòpic.

Només es pot menjar marisc
als mesos que tenen r
Refrany popular

CONCLUSIONS

Conclusions generals

1. El mostreig de les aigües confinades ha estat adequat per seguir la dinàmica de les proliferacions de diverses espècies de fitoplàncton potencialment tòxic o nociu i conèixer la distribució geogràfica i temporal a la costa catalana. Però per tenir una visió completa de les proliferacions algals nocives (PAN) és convenient incorporar un mostreig adreçat a la detecció dels organismes bentònics o epífits.
2. A la costa catalana hi ha una incidència elevada de (PAN) que tenen lloc en aigües confinades, com p. ex., ports i badies (proliferacions de petita escala). En situacions concretes poden generalitzar-se i afectar les aigües exteriors al llarg de desenes de kilòmetres de costa (proliferacions de mesoscala).
3. El fet de detectar sempre les proliferacions d'escala petita abans que les de mesoscala indica que el sistema de mostreig d'aigües confinades serveix com a eina per a la detecció primerenca de proliferacions de mesoscala.
4. Al igual que a les aigües oceàniques mediterrànies, la comunitat fitoplanctònica d'aigües confinades segueix un patró estacional. Però a diferència de les aigües oceàniques on es detecten bàsicament dues proliferacions anuals ocasionades per diatomees (a la primavera i a la tardor-hivern) relacionades amb la formació i amb el trencament de la termoclina, a les aigües confinades la major part de les proliferacions tenen lloc durant l'època càlida (moment en què les aigües oceàniques superficials estan empobrides en nutrients). Els màxims responsables de proliferacions (en sentit general, no només PAN) a les aigües confinades són el grup de les *dinoflagel·lades* i *nanoflagel·lades formadores de blooms* i les *diatomees d'estiu-tardor*.
5. En un moment determinat, la comunitat de fitoplàncton en aigües amb un grau més o menys elevat de confinament és la mateixa, i la diferència està en les densitats cel·lulars. Com més gran sigui la mida d'un port (s'assumeix que augmenta el temps de residència de l'aigua), més gran serà la probabilitat que hi tinguin lloc proliferacions de dinoflagel·lades i aquestes seran de més magnitud. Particularment el grup de les dinoflagel·lades fa les proliferacions en els ports grans i durant els mesos d'estiu. Són aquestes situacions on hi ha el màxim risc de PAN.
6. *Alexandrium* i *Dinophysis* són els gèneres dominants de dinoflagel·lades potencialment nocives al plàncton, i *Ostreopsis* al bentos. Dins del grup de les diatomees s'han identificat tres espècies potencialment tòxiques del gènere *Pseudo-nitzschia*: *P. pseudodelicatissima* – la més freqüent –, *P. delicatissima* i *P. pungens*.

7. La majoria de les PAN detectades són recurrents anualment. En algunes d'elles (p. ex.: el gènere *Alexandrium* i *Gyrodinium impudicum*) la recurrència es pot explicar per la presència de cists de resistència en el seu cicle vital, en d'altres (p. ex.: el gènere *Dinophysis*) es pot explicar per la presència de cèl·lules vegetatives durant l'hivern.
8. L'elevada i creixent incidència de PAN, particularment de dinoflagel·lades, es pot relacionar amb la creixent presència i acció humana sobre la costa, incloent la modificació de la línia de la costa (ports i espigons) que augmenta el volum d'aigües confinades. Augmentant la quantitat de ports s'incrementa la probabilitat que diverses espècies de dinoflagel·lades facin proliferacions, i per tant s'incrementa la possible expansió d'aquestes espècies cap a àrees properes on no s'havien establert.

Conclusions específiques

L'*Alexandrium catenella*:

9. El 1996 es detecta per primer cop a la costa catalana una proliferació de la dinoflagel·lada *Alexandrium catenella*, productora de toxicitat PSP. Aquesta espècie fa *blooms* de petita escala i de mesoscala a les aigües costaneres de Catalunya. Els *blooms* de petita escala assoleixen concentracions superiors a 10^6 cèl·luls·L⁻¹. Les màximes concentracions detectades en els *blooms* de mesoscala han estat inferiors a 10^5 cèl·luls·L⁻¹ i s'han detectat a la costa central (al llarg d'uns 100 km de costa). El seguiment d'*Alexandrium catenella* en l'espai (diverses estacions) i en el temps (anys 1996-99) indica que aquesta espècie ha experimentat una expansió al llarg de la costa catalana, probablement degut a les condicions adequades que han trobat en les aigües confinades.

Les dinoflagel·lades epífites de macroalgues:

10. Al llarg de la costa catalana i Mallorca hi ha una associació de dinoflagel·lades epífites de macroalgues (que presenta les densitats màximes a la Costa Brava) i que s'ha demostrat que és tòxica. L'associació està formada principalment per *Ostreopsis* sp., l'espècie dominant, *Coolia monotis* i *Prorocentrum lima*. Aquestes espècies també són presents a la columna d'aigua i a la sorra, on *Ostreopsis* sp. torna a ser l'espècie dominant.
11. No s'han observat diferències significatives en la concentració d'epífits en les quatre macroalgues estudiades: *Corallina elongata* (Rhodophyceae), *Dictyocha dichotoma*, *Dilophus fasciola* i *Halopteris scoparia* (Phaeophyceae). Totes elles presenten una estructura

tridimensional del tal·lus que els permet suportar una elevada densitat cel·lular d'epífits (*carrying capacity*).

12. Encara que l'associació d'organismes epífits és present al llarg de tot l'any, la seva abundància segueix un patró estacional, i assoleix les concentracions màximes durant l'època càlida, però sense presentar canvis relatiu significatius en la composició d'espècies.

Les diatomees del gènere *Pseudo-nitzschia*:

13. Les densitats màximes de *Pseudo-nitzschia* (mitjana 10^4 cells·L⁻¹; màxim 10^6 cells·L⁻¹) es detecten durant la primavera i durant la tardor, però a l'àrea del delta de l'Ebre també s'observen situacions de concentracions elevades durant l'estiu. En aquesta zona, les proliferacions de *Pseudo-nitzschia* apareixen en tres èpoques de l'any i amb espècies acompanyants diferents, les espècies dominants en cada època de l'any.

BIBLIOGRAFIA

Abadie E, Amzil Z, Belin C, Comps MA, Elzière-Papayanni P, Lassus P, LeBec C, Marcaillou-Le Baut C, Nézan E and Poggi R (1999) Contamination de l'étang de Thau par *Alexandrium tamarense*. Épisode de novembre à décembre 1998. Éditions Ifremer, Plouzané, 44pp

Adachi R, Fukuyo Y (1979) The thecal structure of a marine toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* gen. et sp. nov. collected in a ciguatera-endemic area. Bull Jpn Soc Sci Fish 45: 67-71

Amzil Z, Fresnel J, Le Gal D, Billard C (2001) Domoic acid accumulation in French shellfish in relation to toxic species of *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P. pseudodelicatissima*. Toxicon 39: 1245-1251

Anderson DM (1997) Turning back the harmful red tide. Nature 388: 513

Anderson DM (1989) Toxic algal blooms and red tides: A global perspective. In: Okaichi T, Anderson DM, Nemoto T (ed) Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology. Elsevier, New York, p 11-16

Anderson DM, Kulis DM, Sullivan JJ, Hall S (1990) Toxin composition variations in one isolate of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. Toxicon 28, 885-893

Anderson DM, Sullivan JJ, Reguera B (1989) Paralytic shellfish poisoning in Northwest Spain: the toxicity of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*. Toxicon 27: 665-674

Anderson DM, Taylor CD, Armbrust EV (1987) The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. Limnol Oceanogr 32: 340-351

Anderson DM, Wall D (1978) Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. J Phycol 14: 224-234

AOAC (1980) Standard Mouse Bioassay for Paralytic Shellfish Toxins. In Horwitz W (ed.) Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytic Chemists, Washington D.C. USA, p 298-299

Aubry F B, Berton A, Bastianini M, Bertaggia R, Baroni A, Socal G (2000) Seasonal dynamics of *Dinophysis* in coastal waters of the NW Adriatic Sea (1990–1996). Bot Mar 43: 423–430

Autoritat Portuària de Barcelona (Servei Medi Ambient) (2000) Estudio de la problemática de la contaminación por aguas de lastre en el puerto de Barcelona (resultados preliminares de la primera fase)

Avila- E, Fraga S, Franco J (1999). Perfil de toxinas de *Alexandrium catenella* en el Mediterráneo. In I. Marquez (ed), VI Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas 55/00 Sevilla: Viceconsejería. p 227-230

Bagins R, Bennet J, Prieur C, Legrand AM (1985) The dynamics of three toxic benthic dinoflagellates and the toxicity of ciguateric surgeonfish in French Polynesia. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (ed) Toxic Dinoflagellates. New York, p 177-182

Bagøien E, Miranda A, Reguera B, Franco JM (1996) Effects of two paralytic shellfish toxin producing dinoflagellates on the pelagic copepod *Euterpina acutifrons*. Mar Biol 126: 361-369

Balech E (1995) The genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). Sherkin Island Marine Station, Cork, Special Publication

-
- Ballantine DL, Bardales AT, Tosteson TR, Durst HD (1985) Seasonal abundance of *Gambierdiscus toxicus* and *Ostreopsis* sp. in coastal waters of southwest Puerto Rico. 5th Int Coral reef Cong, Tahiti 4: 417-422
- Ballantine DL, Tosteson TR., Bardales AT (1988) Population dynamics and toxicity of natural populations of benthic dinoflagellates in southwestern Puerto Rico. J Exp Mar Biol Ecol 119: 201-212
- Ballesteros E (1992) Els vegetals i la zonació litoral: espècies, comunitats i factors que influeixen en la seva distribució. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona
- Bates SS (2000) Domoic-acid-producing diatoms: another genus added! J Phycol 36: 978-983
- Bates SS, Garrison DL, Horner RA (1998) Bloom dynamics and physiology of domoic-acid-producing *Pseudo-nitzschia* species. In: Anderson DA, Cembella AD, Hallegraeff GM (ed) Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms. Springer-Verlag, Heidelberg, p 267-292
- Belin C (1993) Distribution of *Dinophysis* spp. and *Alexandrium minutum* along French coasts since 1984 and their DSP and PSP toxicity levels. In Smayda TJ, Shimizu Y (eds), Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 469-474
- Bolch CJ, Blackburn SI, Cannon JA, Hallegraeff GM (1991) The resting cyst of the red-tide dinoflagellate *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). Phycologia 30: 215-219
- Bomber JW, Rubio MG, Norris DR (1989) Epiphytism of dinoflagellates associated with ciguatera: substrate specificity and nutrition. Phycologia 28: 360-368
- Boni L, Milandri A, Poletti R, Pompei M (1993) DSP cases along the coast of Emilia-Romagna (Northeastern Adriatic Sea). In Smayda TJ, Shimizu Y (eds), Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, pp. 475-481
- Boni L, Pompei M, Reti M (1983) The occurrence of *Gonyaulax tamarensis* Lebour in the Adriatic Sea along the coast of Emilia Romagna. G Bot Ital 117: 115-120
- Boni L, Pompei M, Reti M (1986) Maree colorate e fioriture algali lungo la costa dell'Emilia Romagna dal 1982 al 1985 con particolare riguardo alla comparsa di *Protogonyaulax tamarensis*. Nova Thalassia 8: 237-245
- Bravo I, Reguera B, Martinez A, Fraga S (1990) First report of *Gymnodinium catenatum* Graham on the Spanish Mediterranean Coast. In Granelli E *et al.* (eds), Toxic Marine Phytoplankton. Elsevier, New York, pp. 449-452
- Calbet A, Garrido S, Saiz E, Alcaraz M, Duarte CM (2001) Annual zooplankton succession in coastal NW Mediterranean waters: the importance of the smaller fractions. J Plankton Res 23: 319-331
- Carlson RD, Tindall DR (1985) Distribution and periodicity of toxic dinoflagellates in the Virgin Islands. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (eds) Toxic Dinoflagellates. Elsevier, New York, p 171-176
- Caroppo C, Congesti R, Bruno M (1999) On the presence of *Phalacroma rotundatum* in the southern Adriatic Sea (Italy). Aquat Microb Ecol 17: 301-310
- Carrada GC, Casotti R, Modigh M, Saggiomo V (1991) Presence of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) in a coastal Mediterranean lagoon. J Plankton Res 13: 229-238

- CarrasqueroVerde JR (1999) Role of associated bacteria in *Heterosigma carterae* toxicity to salmonids. *Aquatic Toxicology* 45: 19-34
- Cebrián J, Valiela I (1999) Seasonal patterns in phytoplankton biomass in coastal ecosystems. *J Plankton Res* 21: 429-444
- Ciminiello P, Fattorusso E, Forino M, Montresor M (1999) A new PSP-like toxin in *Alexandrium andersonii* (Dinophyceae). *HAN*, 18: 1, 3
- Chang FH, Shimizu Y, Hay B, Stewart R, Mackay G, Tasker R (2000) Three recently recorded *Ostreopsis* spp. (Dinophyceae) in New Zealand: temporal and regional distribution in the upper North Island from 1995 to 1997. *New Zeal J Mar Fresh Res* 34: 29-39
- Delgado M (1990) Phytoplankton distribution along the Spanish coast of the Alboran Sea. *Sci Mar* 54: 169-178
- Delgado M, Alcaraz M (1999) Interactions between red tide microalgae and herbivorous zooplankton: the noxious effects of *Gyrodinium corsicum* (Dinophyceae) on *Acartia grani* (Copepoda : Calanoida). *J Plankton Res* 21: 2361-2371
- Delgado M, Estrada M, Camp J, Fernández JV, Santmartí M and Lletí C (1990) Development of a toxic *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) bloom in the harbour of Sant Carles de la Ràpita (Ebro Delta, northwestern Mediterranean). *Sci Mar* 54: 1-7
- Delgado M, Fernandez JV, Garcés E, Matamoros E, Camp J (1995) Proliferación de un dinoflagelado del género *Gyrodinium* en la bahía de Alfacs (Delta del Ebro) asociado a mortandad de peces. In Castelló F, Calderer A (eds), V Congreso Nacional Acuicultura St. Carles de la Ràpita, Spain, Universitat de Barcelona, p 700-704
- Delgado M, Garcés E, Camp J (1996). Growth and behaviour of *Dinophysis sacculus* from NW Mediterranean. In Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (ed), Harmful and Toxic Algal Blooms Sendai, Japan. IOC (UNESCO) p 261-264
- Delgado M, Garcés E, Vila M, Camp J (1997) Morphological variability in three populations of the dinoflagellate *Alexandrium taylori*. *J Plankton Res* 19: 749-757
- Delgado M, Latasa M, Estrada M (1992) Variability in the size fractionated distribution of the phytoplankton across the catalan front of the north-west Mediterranean. *J Plankton Res* 14: 753-771
- Delgado M, Matamoros E, Vila M, Garcés E, Camp J (1998). Seguimiento del fitoplancton nocivo en la Costa Catalana en los años 1995-96. In: Vieites JM, Leira F (ed), V Reunión Ibérica de Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas Vigo: ANFACO-CECOPECA. p 25-35
- Delgado M, Santmartí M, Vila M, Garcés E, Camp J (1999). Seguimiento del fitoplancton tóxico en las bahías del Delta del Ebro en los años 1997-1998. In: Marquez I (ed), VI Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas 55/00 Sevilla: Viceconsejería. p 51-58
- Della-Loggia R, Cabrini M, Del-Negro P, Honsell G, Tubaro A (1993) Relationship between *Dinophysis* spp. in seawater and DSP toxins in mussels in the Northern Adriatic Sea. In Smayda TJ, Shimizu Y (eds), Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Elsevier, Amsterdam, pp 483-488

-
- Doucette GJ, Cembella AD, Boyer GL (1989) Cyst formation in the red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae): Effects of iron stress. *J Phycol* 25: 721-731
- Duarte C, Agustí S, Kennedy H, Vaqué D (1999) The Mediterranean climate as a template for mediterranean marine ecosystems: the example of the northeast Spanish litoral. *Progress in Oceanography* 44: 245-270
- Elbrachter M (1998) Exotic flagellates of coastal North Sea waters. *Helgolander Meeresuntersuchungen* 52: 235-242
- Establier R, Lubián LM, Blasco J (1986) Fitoplancton e hidrografia de la bahía de Cádiz (SO de España), de marzo de 1980 a diciembre de 1983. *Inv Pesq* 69-81
- Estrada M (1972) Analyse en composantes principales de données de phytoplancton de la zone côtière du Sud de l'Ebre. *Inv Pesq* 36: 109-118
- Estrada M (1979) Observaciones sobre la heterogeneidad del fitoplancton en una zona costera del mar Catalán. *Inv Pesq* 637-666
- Estrada M (1980) Composición taxonómica del fitoplancton en una zona próxima a la desembocadura del río Besós (Barcelona), de octubre de 1978 a marzo de 1979. *Inv Pesq* 275-289
- Estrada, M (1985) Deep phytoplankton and chlorophyll maxima in the Western Mediterranean. In: Maraitou-Apostopoulou M, Kiortsis V (ed) *Mediterranean Marine Ecosystems*. Plenum Press, New York, p 247-277
- Estrada M (1999) Hidrodinàmica i fitoplàncton en el mar Català. *Memoreis de la Reial Acadèmia de Ciències i Arts de Barcelona* 961: 189-247
- Estrada, M (2000) Persistence and variability of phytoplankton assemblages. Implications for monitoring. In: Fisher J, Baretta J, Colijn F, Flemming N (ed) *Bio-ecological obserbations in operational Oceanography*. EuroGOOS Publication. Southampton Oceanography Centre, Southampton, p 14
- Estrada M, Salat J (1989) Phytoplankton assemblages of deep and surface water layers in a Mediterranean frontal zone. *Sci Mar* 53: 203-214
- Estrada M, Varela RA, Salat J, Cruzado A, Arias E (1999) Spatio-temporal variability of the winter phytoplankton distribution across the Catalan and North Balearic fronts (NW Mediterranean). *J Plankton Res* 21: 1-20
- EUROHAB (1999) European Initiative on Harmful Algal Blooms. In: Granéli E, Codd GA, Dale B, Lipiatou E, Maestrini SY, Rosenthal H (ed) *Harmful Alagal Blooms in European Marine and Brackish Waters*. European Commission Directorate General Science, Belgium, pp 93
- Faust MA (1999) Three new *Ostreopsis* species (Dinophyceae): *O. marinus* sp nov., *O. belizeanus* sp nov., and *O. caribbeanus* sp nov. *Phycologia* 38: 92-99
- Faust MA, Morton SL (1995) Morphology and ecology of the marine dinoflagellate *Ostreopsis labens* sp. nov. (Dinophyceae). *J Phycol* 31: 456-463
- Faust MA, Morton SL, Quod JP (1996) Further SEM study of marine dinoflagellates: the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae). *J Phycol* 32: 1053-1065

- Fernández-Tejedor M, Soubrier MA, Tort L, Padrós F, Gairín JI (2001) Efectos letales de la dinoflagelada *Gyrodinium corsicum* sobre dos especies de peces, *Sparus aurata* y *Dicentrarchus labrax*. In VII Reunión Ibérica de Fitopláncton Tóxico y Biotoxinas (abstract only)
- Fiedler PC (1982) Zooplankton avoidance and reduced grazing responses to *Gymnodinium splendens* (Dinophyceae). *Limnol Oceanogr* 27: 961-965
- Font J, Salat J, Tintoré J (1988) Permanent features of the circulation in the Catalan sea. In: Minas HJ, Nival P (ed) *Océanographie pélagique Méditerranéenne*. *Oceanol Acta* p 51-57
- Forteza V, Quetglas G, Delgado M, Reyero MI, Fraga S, Franco JM, Cacho E (1998) Toxic *Alexandrium minutum* bloom in Palma de Mallorca Harbour, (Balearic Islands, Western Mediterranean). In Reguera B, Blanco J, Fernandez ML, Wyatt T (eds), VIII International Conference on Harmful Algae, Vigo, Xunta de Galicia and IOC of UNESCO, pp 58-59
- Fraga S, Bravo I, Delgado M, Franco JM and Zapata M (1995) *Gyrodinium impudicum* sp. nov. (Dinophyceae), a non toxic, chain-forming, red tide dinoflagellate. *Phycologia* 34: 514-521
- Fritz L, Triemer RE (1985) A rapid simple technique utilizing calcofluor white M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *J Phycol* 21: 662-664
- Fryxell GA, Villac MC, Shapiro LP (1997) The occurrence of the toxic diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) on the West Coast of the USA, 1920-1996: a review. *Phycologia* 36: 419-437
- Fukuyo Y (1981) Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in Coral Reefs. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 47: 967-978
- Gangemi E (2001) Dinoflagellati nocivi nelle fitocenosi di un ecosistema litorale della Sicilia Orientale (Pantano Grande - Lagune di Capo Peloro, Me). PhD Thesis. Università di Messina
- Garcés E (1998) Proliferacions de dinoflagel·lades a la Costa Catalana: estudi del creixement *in situ* i adaptacions per al manteniment. PhD Thesis. Universitat de Barcelona
- Garcés E, Delgado M, Masó M, Camp J (1998a) Life history in situ growth rates of *Alexandrium taylori* (Dinophyceae, Pyrrophyta). *J Phycol* 34: 880-887
- Garcés E, Delgado M, Masó M, Camp J (1999a) *In situ* growth rate and distribution of the ichthyotoxic dinoflagellate *Gyrodinium corsicum* Paulmier in an estuarine embayment (Alfacs Bay, NW Mediterranean Sea). *J Plankton Res* 21: 1977-1991
- Garcés E, Delgado M, Vila M, Camp J (1998b). An *Alexandrium minutum* bloom: in situ growth or accumulation? In Reguera B, Blanco J, Fernandez ML, Wyatt T (ed), VIII International Conference on Harmful algae. Vigo: Xunta de Galicia and IOC-UNESCO. p 167-170
- Garcés E, Masó M, Camp J (1999b) A recurrent and localized dinoflagellate bloom in Mediterranean beach. *J Plankton Res* 21: 2373-2391
- Garcés E, Masó M, Vila M, Camp J (2000a) Harmful algae events in the Mediterranean: are they increasing? *HAN* 20: 10-11

Garcés E, Masó M, Vila M, Camp J (2000b) Interactions between coastal water areas modified by human activity and harmful algae adaptation strategies. ICES 2000 Report on the young scientist conference on Marine Ecosystem Perspectives ICES Cooperative research report, N° 240: 73 pp

Garcés E, Vila M, Masó M, Moragues M, Arin L, Camp J. Temporal and spatial distribution of the species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in Catalan coastal waters, NE Spain (Mediterranean Sea). *Sci Mar* (submitted)

Giacobbe MG, Maimone G (1994) First report of *Alexandrium minutum* Halim in a Mediterranean lagoon. *Cryptogamie Algol* 15: 47-52

Giacobbe MG, Oliva F, La-Ferla R, Puglisi A, Crisafi E, Maimone (1995) Potentially toxic dinoflagellates in Mediterranean waters (Sicily) and related hydrobiological conditions. *Aquat Microb Ecol* 9: 63-68

Giacobbe MG, Oliva FD, Maimone G (1996) Environmental factors and seasonal occurrence of the dinoflagellate *Alexandrium minutum*, a PSP potential producer, in a Mediterranean lagoon. *Estuarine Coastal Shelf Sci* 42: 539-549

Giacobbe MG, Yang XM (1999) The life history of *Alexandrium taylori* (Dinophyceae). *J Phycol* 35: 331-338

Gillespie NC, Holmes MJ, Burke JB, Doley J (1985) Distribution and periodicity of *Gambierdiscus toxicus* in Queensland, Australia. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (eds) *Toxic Dinoflagellates*. Elsevier, New York, p 183-188

Gomis C, Alcober J, Bernabeu A (1996). Seguimiento de las poblaciones fitoplanctónicas en las bateas mejilloneras del puerto de Valencia. 1991-1994. In: Matamoros E, Delgado M (ed), *IV Reunión Ibérica de Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas St. Carles de la Ràpita (Tarragona): Generalitat de Catalunya. Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca.* p 29-38

Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (1983). *Methods of Sea Water Analysis*. Ed. Verlag Chemie. Germany 345 pp.

Grzebyk D, Berland B, Thomassin BA, Bossi C, Arnoux A (1994) Ecology of ciguateric dinoflagellates in the coral reef complex of Maynotte Island (SW Indian Ocean). *J Exp Mar Biol Ecol* 178: 51-66

HAEDATdatabase. Centro Científico y de Comunicación sobre Algas Nocivas, COI-IEO

Halim Y (1960) *Alexandrium minutum* nov. g. nov. sp. dinoflagellé provocant des "eaux rouges". *Vie et Milieu* 11: 102-105

Hallegraeff GM (1993) A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* 32: 79-99

Hallegraeff GM (1994) Species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* in Australian waters. *Bot Mar* 37: 397-411

Hallegraeff GM (1998) Transport of toxic dinoflagellates via ship' ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies. *Mar Ecol Prog Ser* 297-309

-
- Justic D, Rabalais NN, Turner RE, Dortch Q (1995) Changes in nutrient structure of river-dominated coastal waters: Stoichiometric nutrient balance and its consequences. *Estuar Coast Shelf S* 40: 339-356
- Karenz D, Smayda TJ (1998) Temporal patterns and variations in phytoplankton community organization and abundance in Narragansett Bay during 1959-1980. *J Plankton Res* 20: 145-168
- Koray T, Buyukisik B, Benli H, Gokpinar S (1992) Phytoplankton blooming and zooplankton swarms in eutrophied zones of Aegean Sea (Izmir Bay). *Rapp Comm Int Mer Médit* 33: 257
- Laabir M, Gentien P (1999) Survival of toxic dinoflagellates after gut passage in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *J Shellfish Res* 18: 217-222
- Lakkis S, Zeidane R (1995) Le genre *Dinophysis* Ebnenberg des eaux côtière Libanaises. Composition et distribution spatio-temporelle des espèces. *Rapp Comm Int Mer Médit* 34: 212
- Lindahl O (1983) On the development of a *Gyrodinium aureolum* occurrence on the Swedish west coast in 1982. *Mar Biol* 143-150
- Lobel PS, Anderson DM, Durand-Clement M (1988) Assessment of ciguatera dinoflagellate populations: sample variability and algal substrate selection. *Biol Bull* 175: 91-101
- López J, Arté P (1971) Aguas rojas en las costas catalanas. *Inv Pesq* 35: 699-708
- López J, Arté P (1972) Aguas rojas en el Mediterraneo Occidental. *Publ Técnicas Dirección General de Pesca Marítima* 10: 399-412
- Lundholm N, Skov J, Pocklington R, Moestrup O (1997) Studies on the marine planktonic diatom *Pseudo-nitzschia*. 2. Autecology of *P. pseudodelicatissima* based on isolates from Danish coastal waters. *Phycologia* 36: 381-388
- Maestrini SY (1996) Bloom dynamics and ecophysiology of *Dinophysis* spp. In Anderson DA, Cembella AD, Hallegraeff GM (eds), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, p 243-265
- Mamán L, Fernández L, Ocaña A, Marco JJ, Morales J, Caballos M, Márquez I, Aguilar M (2000). Seguimiento de fitoplancton tóxico en la costa de Andalucía durante los años 1997 y 1998. In: Márquez I (ed), VI Reunión Ibérica de Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas Sevilla: Junta de Andalucía p 41-49
-
- Marasovic I, Nincevic Z, Odzak N (1995) The effect of temperature on blooms for *Lingulodinium polyedrum* and *Alexandrium minutum* in Kastela Bay. In Lasus PA, Erard-Le-Denn G, Gentien P, Marailhou-Le-Baut C (eds) *Harmful Marine Algal Blooms*. Lavoisier, Paris (France), p 187-192
- Margalef R (1945) Fitoplancton nerítico de la Costa Brava catalana (Sector de Blanes). Instituto Español de Estudios Mediterráneos. Publicaciones sobre Biología Mediterránea, Barcelona
- Margalef R (1965) Distribución ecológica de las especies del fitoplancton marino en una área del Mediterráneo occidental. *Inv pesq* 28: 117-131
- Margalef R (1968) Fluctuaciones de varios años de período medio en la producción de fitoplancton en el Mediterráneo occidental. *Collectanea Botanica VII*: 727-747

- Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD (1995) Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC Manuals and Guides 33: 551p
- Hallegraeff GM, Bolch CJ (1992) Transport of diatoms and dinoflagellates resting spores in ships' ballast water: implications for plankton biogeography and aquaculture. *J Plankton Res* 14: 1067-1084
- Hallegraeff GM, Bolch CJ, Blackburn SI, Oshima Y (1991) Species of the toxigenic dinoflagellate genus *Alexandrium* in south-eastern Australian waters. *Bot Mar* 34: 575-587
- Hallegraeff GM, Bolch CJ, Bryan J, Koerbin B (1990) Microalgal spores in ships' ballast water: a danger to aquaculture. In: Graneli E (ed) *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, New York, p 475-480
- Hallegraeff GM, Marshall JA, Valentine J, Hardiman S (1998) Short cyst-dormancy period of an Australian isolate of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Mar Freshw Res* 49: 415-420
- Hasle G, Fryxell G (1970) Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy. *Trans Am Microsc Soc* 89: 469-474
- Hasle G, Syvertsen E (1997) Marine diatoms. In: Tomas C (ed) *Identifying marine phytoplankton*. Academic Press, San Diego, p 1-385
- Ho KC (1998) Variations in the PSP contents of shellfish in Hong Kong and the eastern coast of South China Sea. *J Shellfish Res* 17: 1657-1660
- Honsell G (1993) First report of *Alexandrium minutum* in northern Adriatic waters (Mediterranean Sea). In Smayda TJ, Shimizu Y (eds), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Elsevier, Amsterdam, pp 127-132
- Honsell G, Nichetto P, Sidari L., Tubaro A. (1995) Toxic dinoflagellates in the Mediterranean Sea. *G Bot Ital* 129: 391-403
- Honsell G, Poletti R, Pompei M, Sidari L, Milandri A, Viviani R (1996) *Alexandrium minutum* Halim and PSP contamination in the northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (eds), *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Sendai, Japan. IOC, UNESCO, pp 77-80
- Horner RA, Postel JR, Rensel JE (1990) In: *Toxic Marine Phytoplankton*, Graneli E *et al.* (eds) (Elsevier, New York), pp 171-176
- Ignatiades L, Georgopoulos D, Karydis M (1995) Description of the phytoplanktonic community in the oligotrophic waters of the SE Aegean Sea (Mediterranean). *Marine Ecology* 16: 13-26
- Imai I, Nishitani G (2000) Attachment of picophytoplankton to the cell surface of the toxic dinoflagellates *Dinophysis acuminata* and *D. fortii*. *Phycologia* 39: 456-459
- Ismael AA, Halim Y (2000) Occurrence and succession of potentially harmful phytoplankton species in the eastern harbour of Alexandria. In Abstract Book, 9th International Conference on Harmful Algal Blooms. Hobart, Tasmania (Australia) (Abstract only), p 24
- Jenkinson J (2000) Mitigation and HAB research. *HAN* 21: 1-3

- Margalef R (1969) Composición específica del fitoplancton de la costa catalano-levantina. *Inv Pesq* 33: 345-380
- Margalef R (1978) Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanol Acta* 1: 493-509
- Margalef R (1998) Red tides and ciguatera as successful ways in the evolution and survival of an admirable old phylum. In: Reguera B, Blanco J, Fernandez ML, Wyatt T (ed) Harmful Algae. Xunta de Galicia and IOC-UNESCO, Santiago de Compostela, p 3-7
- Margalef R, Ballester A (1967) Fitoplancton y producción primaria de la costa catalana, de junio de 1965 a junio de 1966. *Inv Pesq* 31: 165-182
- Margalef R, Estrada M (1987) Synoptic distribution of summer microplankton (Algae and Protozoa) across the principal front in the Western Mediterranean. *Inv Pesq* 51: 121-140
- Margalef R, Estrada M, Blasco D (1979) Functional morphology of organisms involved in red tides, as adapted to decaying turbulence. In: Taylor DL, Seliger HH (ed) Toxic dinoflagellate blooms. Elsevier, North Holland, p 89-94
- Martin JL, Haya K, Burrige LE, Wildish DJ (1990) *Nitzschia pseudodelicatissima* - a source of domoic acid in the Bay of Fundy, eastern Canada. *Mar Ecol Prog Ser* 67: 177-182
- Masó M, Camp J, Garcés E, Olivos A, Vila M (2000). Nutrient ratios in the near-shore waters of the Catalan Coast: a more realistic scenario for the HABs increment in the NW Mediterranean Sea. In Abstract Book 9th International Conference on Harmful Algal Blooms. Hobart, Tasmania (Australia): p 175
- Masó M, Duarte C (1989) The spatial and temporal structure of hydrographic and phytoplankton biomass heterogeneity along the Catalan coast (NW Mediterranean). *J Marine Res* 47: 813-827
- Masó M, Garcés E, Pagés F, Camp J (2001) Drifting plastics are potential vectors of Harmful Algae causing Blooms (HABs) dispersal. *Aquat Microb Ecol* (submitted)
- Masó M, Tintoré J (1991) Variability of the shelf water off NE Spanish Coast. *J Marine Syst* 1: 441-450
- Matsuda A, Nishijima T, Fukami K (1999) Effects of nitrogenous and phosphorus nutrients on the-growth of toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 65: 847-855
- Montresor M, Marino D, Zingone A, Dafnis G (1990). Three *Alexandrium* species from coastal Tyrrhenian waters. In Graneli E et al. (eds), Toxic Marine Phytoplankton. Elsevier, New York, pp 82-87
- Montresor M, Sarno D, Zingone A (2000) Can we peacefully live together with harmful phytoplankton? The case of Gulf of Naples. In Abstract Book 9th International Conference on Harmful Algal Blooms. Hobart, Tasmania (Australia), p 182
- Montresor M, Zingone A, Sarno D (1998) Dinoflagellate cyst production at a coastal Mediterranean site. *J Plankton Res* 20: 2291-2312
- Mozetic P, Obal R (1995) Seasonal dynamics of *Dinophysis* spp. which caused outbreak during thermal stratification in the Gulf of Trieste. *Rapp Comm Int Mer Médit* 34: 214

-
- Mura M (1997) Dynamics of Phytoplanktonic Communities and Specific Growth Rates. PhD Thesis. Universitat Politècnica de Catalunya. CSIC. Barcelona
- Mura M, Agustí S, Cebrián J, Satta M (1996) Seasonal variability of phytoplankton biomass and community production in Blanes Bay (March 1992-March 1994). In: Duarte C (ed) Seasonality in Blanes Bay: a paradigm of the northwest Mediterranean littoral. Publ Espec Inst Esp Oceanogr, Madrid, p 23-30
- Nakajima I, Oshima Y, Yasumoto T (1981) Toxicity of benthic dinoflagellates in Okinawa. Bull Jap Soc Sci Fish 47: 1029-1033
- Norris DR, Bomber JW, Balech E (1985) Benthic dinoflagellates associated with ciguatera from Florida Keys. I. *Ostreopsis heptagona* sp. nov. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (eds) Toxic Dinoflagellates. Elsevier, New York, p 39-44
- Olivos A (2000) Nutrientes inorgánicos disueltos en aguas litorales próximas del Mar Catalán PhD Thesis. Universitat de Barcelona
- Ostenfeld CJ (1908) On the immigration of *Biddulphia sinensis* Grev. and its occurrence in the North Sea during 1903-1907. Medd Komm Havunders, Ser Plankton 1: 44 pp
- Pagou K, Igniatides L (1990) The periodicity of *Gymnodinium breve* (Davis) in Saronic Gulf, Aegean Sea. In Graneli E et al. (eds), Toxic Marine Phytoplankton. Elsevier, New York, pp 206-208
- Paulmier G, Berland B, Billard C, Nezan E (1995) *Gyrodinium corsicum* nov. sp. (Gymnodiniales, Dinophycees), organisme responsable d'une 'eau verte' dans l'étang marin de Diana (Corse), en avril 1994. Cryptogamie Algol 16: 77-94
- Penna A, Gangemi E, Vila M, Fraga S, Giacobbe MG, Garcés E, Florean S, Andreoni F (2001) A preliminary survey of *Ostreopsidaceae* (Dinophyta) in the Mediterranean: molecular and morphological analyses of different isolates. 7th Int Phycol Conf, Greece
- Pinckney JL, Paerl HW, Harrington MB, Howe KE (1998) Annual cycles of phytoplankton community-structure and bloom dynamics in the Neuse River Estuary, North Carolina. Marine Biology 371-381
- Quod JP (1994) *Ostreopsis mascarensis* sp. nov. (Dinophyceae), dinoflagellé toxique associé à la ciguatera dans l'Océan Indien. Cryptogamie Algol 15: 243-251
- Samson-Kechacha FL, Touahria T (1992) Populations phytoplanktoniques et successions écologiques dans une Lagune saumâtre: le Lac El-Mellah (Algérie). Rapp Comm Int Mer Médit 33: 103
- Sarno D, Dahlmann J (2000) Production of domoic acid in another species of *Pseudo-nitzschia*: *P. multistriata* in the Gulf of Naples (Mediterranean Sea). HAN 21: 5
- Satake M, Ofufi K, McMahon T, Silke J, James KJ, Furey A, Naoki H, Oshima Y, Yasumoto T (2000). Structures and LC/MS determination of Azaspiracids, causative toxins of Azaspiracid Poisoning. In Abstract Book 9th International Conference on Harmful Algal Blooms. Hobart, Tasmania (Australia): p 53

- Schauer M, Massana R, Pedrós-Alió C (2000) Spatial differences in bacterioplankton composition along the Catalan coast (NW Mediterranean) assessed by molecular fingerprinting. *FEMS Microb Ecol* 33: 51-59
- Schmidt J (1902) Flora of Koh Chang. Contribution to the knowledge of the vegetation in the Gulf of Siam. Part IV. Peridiniales. *J Botanicum* 23: 212-218
- Scholin CA, Anderson DM (1996) LSU rDNA-based assays for discriminating species and strains of *Alexandrium* (Dinophyceae). *J Phycol* 32: 1022-1035
- Scholin CA (1996) Morphological, genetic and biogeographic relationships of toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense*, *A. catenella* and *A. fundyense*. In: Anderson DA, Cembella AD, Hallegraeff GM (ed) *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, p 13-27
- Shumway SA (1990) A Review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. *J World Aquac Soc* 21: 65-104
- Sidari L, Cok S, Cabrini M, Tubaro A, Honsell G (1995) Temporal distribution of toxic phytoplankton in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) in 1991 and 1992. In Lassus P, Arzul G, Erard E, Gentien P, Marcaillou C (eds), *Harmful Marine Algal Blooms. Technique et Documentation-Lavoisier, Intercept Ltd*, pp 231-236
- Skov J, Lundholm N, Moestrup O, Larsen J (1999) Potentially Toxic Phytoplankton 4. The diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Diatomophyceae/Bacillariophyceae). *ICES Identification Leaflets for Plankton* 185: 1-23
- Smayda TJ (1990) Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: evidence for a global epidemic. In: Graneli E, Sundström B, Edler L, Anderson DM (ed) *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, New York, p 29-40
- Smayda TJ (1997a) What is a bloom? A commentary. *Limnol Oceanogr* 42: 1132-1136
- Smayda TJ (1997b) Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol Oceanogr* 42: 1137-1153
- Smayda TJ, Reynolds C (2001) Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *J Plankton Res* 23: 447-461
- Sorokin YI, Sorokin PY, Ravagnan G (1999) Analysis of lagoonal ecosystems in the Po River delta associated with intensive aquaculture. *Estuarine Coastal Shelf Sci* 48: 325-341
- Sournia A (1995) Red-tide and toxic marine phytoplankton of the world ocean: An inquiry into biodiversity. In *Harmful Marine Algal Blooms. Proceedings 6th International Conference on Toxic Marine Phytoplankton*, Lavosier, pp 103-112
- StatSoft (1996) *STATISTICA for Windows*, Tulsa.
- Steidinger KA (1983) A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology. In: Round/Chapman (ed) *Progress in Phycological Research*. Elsevier, p 147-188
- Steidinger KA, Baden DG (1984) Toxic marine dinoflagellates. In: Spectot DL (ed) *Dinoflagellates*. Academic Press, Inc, New York, p 201-261

Steidinger KA, Burkholder JM, Glasgow HB, Hobbs CW, Garrett JK, Truby EW, Noga EJ, Smith SA (1996) *Pfiesteria piscicida* gen. et sp. nov. (Pfiesteriaceae fam. nov.), a new toxic dinoflagellate with a complex life cycle and behavior. *J Phycol* 32: 157-164

Steidinger KA, Tangen K. (1997) Dinoflagellates. In: Tomas CR (ed) *Identifying Marine Phytoplankton*. Academic Press, St. Petersburg, Florida, p 387-584

Strategy (2001) HAB in the Mediterranean Sea: interaction between organisms adaptive strategy and increase of confined areas created or modified by human activity. European Project

Tagmouti F, Chafak H, Fellat-Zarrouk R, Talbi M, Blaghen M, Mikou A, Guittet E (1996) Detection of toxins in bivalves of Moroccan coasts. In Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (eds), *Harmful and Toxic Algal Blooms*. UNESCO, Paris, pp 85-87

Takeuchi T (1994) The Ecology of *Alexandrium catenella*, a toxic red tide dinoflagellate in Tanabe Bay, Wakayama Prefecture. *Bulletin of Wakayama Prefecture Fisheries Experimental Station Special*, N° 2 p 88

Takeuchi T, Kokubo T, Fukuyo Y (1990) Distribution of vegetative cells and cysts of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in Tanabe Bay. *Bulletin of Plankton Society of Japan* 37: 157-165

Taylor FJR (1979) A description of the benthic dinoflagellate associated with maitotoxin and ciguatoxin, including observations on Hawaiian material. In: Taylor DL, Seliger HH (ed) *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier, North Holland, New York, p 71-76

Taylor FJR (1984) Toxic dinoflagellates: taxonomic and biogeographic aspects with emphasis on *Protogonyaulax*. In: Ragelis EP (ed) *Seafood Toxins*, p 77-97

Taylor FJR (1990) Red tides, brown tides and other harmful algal blooms: the view in the 1990's. In: Graneli E, Sundström B, Edler L, Anderson DM (ed) *Toxic marine phytoplankton*. Elsevier, New York, p 527-533

Taylor FJR, Haigh R, Sutherland TF (1994) Phytoplankton ecology of Sechart Inlet, a fjord system on the British Columbia coast. II. Potentially harmful species. *Mar Ecol Prog Ser* 103: 151-164

Teegarden GJ (1999) Copepod grazing selection and particle discrimination on the basis of PSP toxin content. *Mar Ecol Prog Ser* 181: 163-176

Thronsen J (1995) Estimating cell numbers. In: Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD (ed) *Manual on harmful marine microalgae*. IOC Manuals and Guides N° 33. UNESCO, p 63-80

Tindall DR, Miller DM, Tindall PM (1990) Toxicity of *Ostreopsis lenticularis* from the British and United States Virgin Islands. In: Graneli E, Sundström B, Edler L, Anderson DM (eds) *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, New York, p 424-429

Tindall DR, Morton SL (1998) Community dynamics and physiology of epiphytic/benthic dinoflagellates associated with Ciguatera. In: Anderson DA, Cembella AD, Hallegraeff GM (eds) *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, p 293-313

Tognetto L, Bellato S, Moro I, Andreoli C (1995) Occurrence of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in the Tyrrhenian Sea during summer 1994. *Bot Mar* 38: 291-295

- Van Dolah FM (2000) Marine algal toxins: Origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ Health Perspect* 108: 133-141
- Venrick, EL (2000) Summer in the Ensenada Front: The distribution of phytoplankton species, July 1985 and September 1988. *J Plankton Res* 22: 813-841
- Vila M, Camp J, Garcés E, Masó M, Delgado M (2001a) High resolution spatio-temporal detection of HABs in confined waters of the NW Mediterranean. *J Plankton Res* 23: 497-514
- Vila M, Delgado M, Camp J (2001b) First detection of widespread toxic events caused by *Alexandrium catenella* in the Mediterranean Sea. In: Hallegraeff GM, Blackburn SI, Bolch CJ, Lewis RJ (ed) *Harmful Algal Blooms 2000*. Proc 9th Int Conf Harmful Algal Blooms. IOC, Paris, (in press)
- Vila M, Delgado M, Garcés E, Camp J, Furones D (2000). El muestreo de puertos en la costa catalana: resultados del seguimiento de fitoplancton nocivo (95-98) y el caso concreto de *Alexandrium catenella*. In VI Reunión Ibérica de Fitopláncton Tóxico y Biotoxinas Marquez I (ed) Junta de Andalucía, Sevilla, pp 93-99
- Vila M, Garcés E, Masó M, Camp J (2001c) Is the distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* expanding along the NW Mediterranean coast? *Mar Ecol Prog Ser*, (in press)
- Vila M, Garcés E, Masó M. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean *Aquat Microb Ecol* (submitted)
- Walz P, Garrison D, Graham W, Catey M, Tjeerdema R, Silver M (1994) Domoic acid-producing diatom blooms in the Monterey Bay, California: 1991-1993. *Natural Toxins* 2: 271-279
- Wright JLC, Cembella AD (1996) Ecophysiology and biosynthesis of polyether marine biotoxins. In Anderson DA, Cembella AD, Hallegraeff GM (eds), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 427-451
- Yasumoto T, Nakajima I, Bagins R, Adachi R (1977) Finding of a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 43: 1021-26
- Yasumoto T, Oshima Y, Murakami Y, Nakajima I, Bagnis R, Fukuyo Y (1980) Toxicity of benthic dinoflagellates found in coral reef. *Bull Jap Soc Sci Fish* 46: 327-331
- Yasumoto T, Seino N, Murakami Y, Murata M (1987) Toxins produced by benthic dinoflagellates. *Biol Bull* 172: 128-131
- Yasumoto T, Underdal B, Aune T, Hormazabal V, Skulberg O, Oshima Y (1990) Screening for hemolytic and ichthyotoxic components of *Chrysochromulina polylepsis* and *Gyrodinium aureolum* from Norwegian coastal waters. In: Granéli E, Sundström B, Edler L, Anderson D (ed) *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, New York, p 436-440

ANNEXE

Resum dels episodis més rellevants de PAN a la costa catalana durant els darrers anys

Al llarg d'aquesta tesi s'ha posat en evidència que les PAN no són un fet anecdòtic a la costa catalana. Hi ha un gran nombre d'incidències, de més o menys rellevància, que tenen lloc afectant àrees més o menys extenses i que poden durar des de setmanes fins a mesos. A continuació es detalla una selecció dels casos concrets més rellevants observats en els últims anys pel grup de l'ICM en el qual m'integro:

- Marea roja de *Noctiluca scintillans* durant el mes de març de 1993. Es va observar al llarg de tota la costa catalana, des de la Costa Brava fins a les illes Columbrets. El fenomen es va observar des de la línia de la costa (Fig. 1, 2) fins a algunes milles de la costa (al nivell de la plataforma).
- Observació d'aigües acolorides ocasionades per la dinoflagel·lada *Gyrodinium impudicum* des de la fi de juliol fins a mitjan agost de l'any 1993 (Fig. 3, 4). Se'n van observar franges paral·leles a la costa de 100-200 m d'amplada i entre 500 m i diversos km de longitud. La màxima densitat de l'organisme (prop de 5 milions de cèl·lules/L) es va detectar entre Barcelona i Arenys de Mar. Se'n van observar taques aïllades a la Costa Brava. No se'n van observar cèl·lules més avall de la desembocadura del riu Llobregat.
- Mortaldat de peixos (*Sparus aurata*) en estancs de cultiu durant els mesos de desembre de 1994 i gener de 1995 a les instal·lacions d'aqüicultura (Fig. 5) de la badia dels Alfacs associada amb grans proliferacions de la dinoflagel·lada *Gyrodinium corsicum*. Des de 1994, cada any s'ha anat repetint aquesta proliferació durant l'hivern i durant la primavera, no sempre associada amb mortaldats d'organismes. A l'hivern de 1997-98 va coincidir amb la mortaldat de musclos de la badia dels Alfacs.
- Observació d'aigües acolorides en forma de taques més o menys extenses causades per la dinoflagel·lada *Alexandrium taylori* (Garcés *et al.*, 1998a; Garcés *et al.*, 1999b). Aquesta apareix durant els mesos d'estiu a partir del migdia i fins a mitja tarda a la platja de la Fosca (Palamós, Costa Brava) (Fig. 6, 7). El comportament particular de la taca amb unes hores de màxima visibilitat al punt del migdia i pel fet d'estar acompanyada de tota mena de sòlids en suspensió, com ara plàstics, plomes de gavines, troncs..., feia pensar en el trencament d'algun col·lector d'aigües residuals. Els anys 1995 i 1998 es va estudiar la seva distribució geogràfica a la Costa Brava. L'espècie hi està completament difosa i

arriba a densitats cel·lulars importants en determinats indrets, però només es presenta de forma notòria (concentracions més grans de 10^6 cèl·lules/l) i recurrent a la Fosca, i des de l'any 1998, a Sant. Pol (Fig. 8).

- La presència de substàncies mucoses és un fenomen bastant habitual (Fig. 9-10). Durant l'estiu de 1995 es va produir un episodi de mocs densos que s'enganxaven a les xarxes dels pescadors i en algun cas fins i tot les trencaven. El fenomen estava associat amb concentracions elevades de fitoplàncton. Podrien ser mucopolisacàrids excretats pel fitoplàncton en situacions d'estrès. No se'n va arribar a determinar l'origen; de totes maneres, la dinoflagel·lada *Pratjetella medusoides* (= *Leptodiscus medusoides*) hi era molt abundant.
- Al llarg d'aquests anys, de forma més o menys continuada, s'han anat detectant episodis tòxics (toxicitat PSP) causats per la dinoflagel·lada *Alexandrium minutum* en diferents indrets confinats de la costa (bàsicament a la badia dels Alfacs i al port d'Arenys de Mar). Recordem que la primera proliferació de l'espècie a la costa catalana fou detectada al 1989 a la badia dels Alfacs (Delgado *et al.*, 1990). De la mateixa manera, també ha estat més o menys habitual la presència de la dinoflagel·lada *Dinophysis sacculus* (toxicitat DSP). També s'ha detectat toxicitat causada per aquest organisme a la badia dels Alfacs.
- Des de l'any 1996 s'han detectat *blooms* de la dinoflagel·lada tòxica (PSP) *Alexandrium catenella* en diversos ports de Catalunya (Vila *et al.* 2001a, Vila *et al.* 2001c) i descoloracions en els ports de Tarragona i de Barcelona. Aquestes coloracions han estat lligades a concentracions elevades de l'organisme tant en indrets confinats com en aigües obertes properes a la línia de la costa. Durant els estius de 1997 i de 1998 es van detectar nivells de toxicitat en marisc per sobre dels permesos per la UE (Vila *et al.*, 2001b).
Vegeu els capítols 2 i 3 d'aquesta memòria.

--



Fig. 1. Descoloració en un espigó (port de Vallcarca)

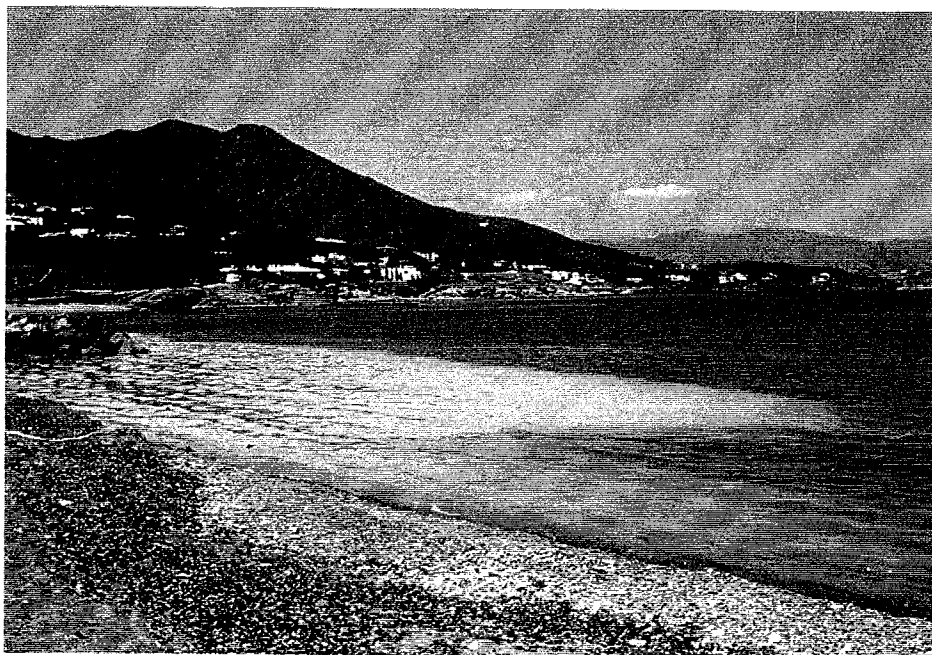


Fig. 2. Descoloració causada per *Noctiluca scintillans* a una platja de la Costa Brava

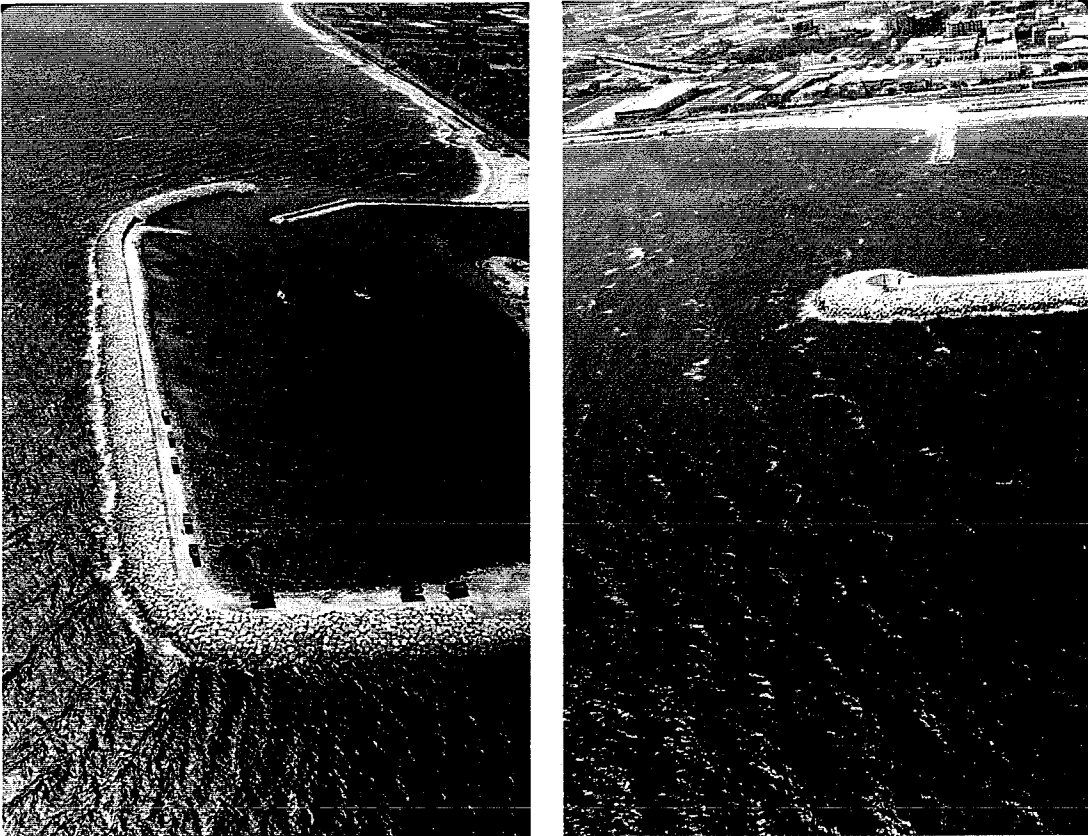


Fig. 3 i 4. Descoloració en el port de Premià causada per *Gyrodinium impudicum*



Fig. 5. Mortaldat de peixos (*Sparus aurata*) atribuïda a la *Gyrodinium corsicum* al Delta de l'Ebre.

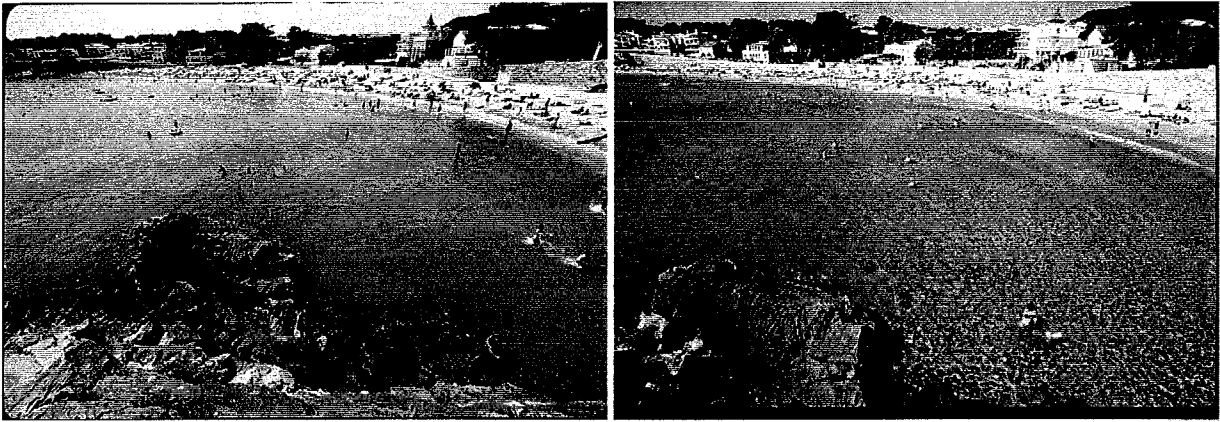


Fig. 6 i 7. Aspecte de la platja de La Fosca amb i sense descoloració de les aigües. Aquesta és causada per la dinoflagel·lada *Alexandrium taylori*.



Fig. 8. Descoloració de la platja de Sant Pol causada per la dinoflagel·lada *A.taylori*.

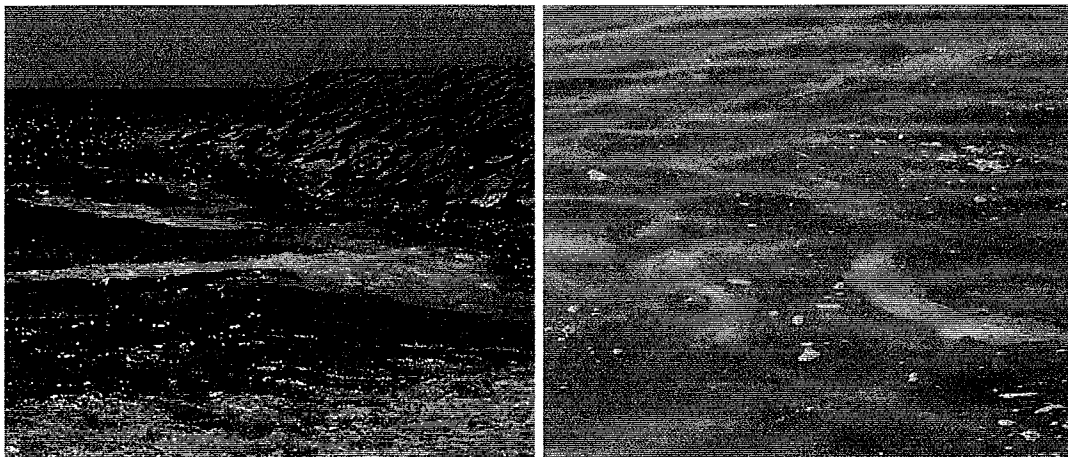


Fig. 9-10. Aspecte de dos escumes en platges (Premià. Mont-roig del Camp).

RESUM DE LA TESI

Introducció

En general el Mediterrani és considerat com un mar oligotròfic amb pics productius durant la primavera i durant la tardor a causa de l'entrada de nutrients per la barreja de la columna d'aigua. Si considerem tan sols la franja d'aigües somes que estan en contacte directe amb el continent, aquesta visió canvia totalment. En tractar problemes d'aigües costaneres s'han de considerar dos aspectes: les entrades o aportaments i els temps de residència o de renovació de les aigües. L'antropització del litoral té conseqüències importants sobre aquests dos aspectes. D'una banda, la densitat de població elevada va unida a un augment dels vessaments de nutrients que enriqueixen notablement les aigües costaneres. Així, els valors més freqüents de DIN, PO₄ i SiO₄ passen a ser de prop de 5, 0,3 i 3,2 μmol l⁻¹ si considerem la franja d'aigües somes que estan en contacte directe amb el continent. Les aigües costaneres presenten, doncs, durant tot l'any, concentracions elevades de nutrients que haurien d'afavorir el desenvolupament de *blooms* algals. La relació estequiomètrica N/P a la nostra costa (Masó et al., 2000) indica generalment un cert dèficit de P (o almenys, un no-excés de N), i el seu valor mitjà és pròxim a 20, amb una distribució irregular al llarg del litoral. La relació DIN/Si està habitualment per sobre d'1, amb un valor mitjà de 5. Això posa de manifest un notable desavantatge teòric de les proliferacions de diatomees enfront de les de dinoflagel·lades, grup considerat ecològicament menys competitiu que les primeres per les seves inferiors taxes de divisió.

D'altra banda, la demanda creixent d'aigües tranquil·les, és a dir, confinades, bàsicament per al lleure públic, s'ha traduït en la creació de nombrosos espigons i dics (per a la protecció de platges) i ports esportius. Com a resultat, hi ha actualment a la costa catalana més de 40 ports, que al llarg de 400 km lineals de costa representen una mitjana d'un port cada 10 km.

Per tant, s'ha vist incrementada la creació d'àrees amb aigües confinades i amb baixes taxes de renovació de l'aigua. Si a més a més tenim en compte que, a diferència de l'Atlàntic, p. ex., el Mediterrani no presenta un important forçament mareal, el temps de residència de l'aigua en aquests ambients confinats serà elevat. Si relacionem això amb el *mandala* de Margalef, que proposa una distribució de diferents grups algals segons les característiques químiques (disponibilitat de nutrients) i físiques (turbulència) de les aigües, veurem que les mareas roges se situen en el quadrant caracteritzat per elevades concentracions de nutrients i

baixa turbulència. Si, a més a més, tenim en compte la capacitat de les aigües confinades d'actuar com a trampes de sedimentació i l'habilitat de moltes dinoflagel·lades per fer cists de resistència, entendrem que existeix una problemàtica potencial de proliferacions de dinoflagel·lades en aquestes àrees.

Tot i que els *blooms* (proliferacions, marees roges o descoloracions) solen ser molt vistosos, sovint són innocus. En canvi al fitoplàncton hi ha determinades *espècies productores de toxines* que poden manifestar la seva nocivitat fins i tot en concentracions cel·lulars molt baixes, molt lluny de produir coloració a l'aigua. Però així, què entenem per un *bloom*? Tot i que en general quan es parla d'un *bloom* se sobreentén una densitat molt elevada d'organismes, segons Smayda (Smayda, 1997), davant un augment de la concentració basal d'espècies potencialment tòxiques o nocives parlarem de *HAB* (de l'anglès *harmful algal blooms*, que hem traduït per *PAN, proliferacions algals nocives*). El terme engloba tant les marees roges o descoloracions com les proliferacions tòxiques o nocives (per l'home, la fauna o la qualitat de les aigües).

Prop d'un 7 % de les espècies de fitoplàncton estimades (que són 3.400-4.100 espècies) han estat descrites com a formadores de marees roges, incloent diatomees, dinoflagel·lades, silicoflagel·lats, primnesiòfits i rafidòcies (Sournia, 1995). De totes maneres, tan sols un 2 % de les espècies són responsables d'episodis nocius o tòxics com a conseqüència de les seves biotoxines, dany físic, anòxia, reducció de la irradiància, etc. D'aquestes, les dinoflagel·lades representen un grup particularment tòxic o nociu, a més a més de ser les majors responsables (75 %) de proliferacions algals nocives (PAN) (Smayda, 1997).

Les PAN es classifiquen en quatre grans grups:

Espècies productores de biotoxines («'blooms' toxics»). Són les responsables de diferents síndromes causats pel consum de marisc contaminat. Són l'enverinament paralitzant pel consum de mol·luscs bivalves o PSP (de l'anglès *Paralytic Shellfish Poisoning*), l'enverinament diarreic pel consum de mol·luscs bivalves o DSP (*Diarrheic Shellfish Poisoning*), l'enverinament amnèsic pel consum de mol·luscs bivalves o ASP (*Amnesic Shellfish Poisoning*, també conegut com enverinament per àcid domoic o DAP, de *Domoic Acid Poisoning*), l'enverinament neurotòxic pel consum de mol·luscs bivalves o NSP (*Neurotoxic Shellfish Poisoning*), l'enverinament per ciguatera degut al consum de peixos o

CFP (*Ciguatera Fish Poisoning*) i l'enverinament per l'azaspiracid o AZP (*Azaspiracid Poisoning*).

Espècies que maten peixos. Afecten els ecosistemes naturals i la indústria de l'aqüicultura. Les espècies que causen la mort de peixos no formen part d'un grup uniforme, sinó que pertanyen a diferents classes algals. Dins d'aquest grup, cal fer un esment especial del cas de *Pfiesteria piscicida*, microalga que presenta un cicle de vida molt complicat (se n'han identificat fins a 24 formes de vida diferent). L'organisme no tan sols produeix la mort massiva de peixos i debilita altres organismes marins sinó que també té efectes tòxics sobre l'home. Fins en aquest moment no s'ha descrit a la Mediterrània.

Blooms de biomasses elevades. Les tradicionalment anomenades *marees roges* són ocasionades per densitats massives de microalgues, gairebé monoespecífiques. Tot i que n'hi ha moltes que, en si, no són tòxiques, indueixen efectes adversos en els ecosistemes marins, ja sigui per les acumulacions d'escuma i d'agregats de substàncies mucoses o gelatinoses, per anòxia, per la reducció de la producció de recursos marins explotables o per la pèrdua del valor recreatiu de les regions costaneres.

Blooms de cianobacteris que produeixen toxines. Aquests poden desenvolupar-se formant biomasses elevades i molts d'ells són productors de toxines i tenen efectes nocius similars als del PSP. Els cianobacteris són responsables de toxicitat en aigües dolces i salabroses.

Resultats

Harmful dinoflagellates in the Mediterranean Sea

A la costa catalana s'ha implementat un nou programa de monitoratge que es basa en el control d'un gran nombre d'aigües confinades (bàsicament ports). Aquest programa de monitoratge inclou, a més de les àrees d'aqüicultura, i, per tant, sota legislació, àrees confinades d'un elevat risc d'ocurrència de PAN. La idea és mostrejar aquestes zones per tal

de tenir una detecció primerenca que ens serveixi d'avís de PAN de gran abast espacial (mesoscala).

S'hi presenten els resultats del mostreig al llarg de cinc anys (1995-1999), amb mostres setmanals a l'estiu i quinzenals a l'hivern. Els principals resultats són: 1) la detecció de moltes espècies nocives i la presència de concentracions elevades de dinoflagel·lades nocives, principalment dels gèneres *Alexandrium* i *Dinophysis*; 2) la detecció d'*Alexandrium catenella*, nova en l'àrea d'estudi, i que ha estat escassament documentada al Mediterrani; 3) la presència d'algunes espècies tòxiques durant tot l'any. Aquí s'inclou *Dinophysis sacculus*, que en altres àrees d'estudi s'havia trobat només durant els mesos d'estiu; 4) la recurrència de *blooms* en diferents estacions de mostreig (p. ex.: *A. minutum* al port d'Arenys de Mar, *G. corsicum* a la badia dels Alfacs, etc.); 5) la coincidència en el temps de *blooms* de petita escala (dins dels ports) amb *blooms* de mesoscala, d'un mateix organisme. L'elevada freqüència en la detecció de PAN es relaciona amb el sistema de mostreig (basat en aigües confinades), i es proposa com a bon sistema per a la detecció primerenca de *blooms* de gran escala.

Expansion of *Alexandrium catenella* in the NW Mediterranean

Se sap que la dinoflagel·lada tòxica *Alexandrium catenella* fa *blooms* en aigües fredes, però durant l'estiu de 1996 es va observar al port de Barcelona (temperatura de l'aigua per sobre de 20 °C). Aquesta va ser la primera vegada que es va detectar un *bloom* d'aquesta espècie a Catalunya. Des de llavors se n'han observat *blooms* anualment recurrents (1996-99) durant els mesos d'estiu al port de Barcelona.

Des de la seva primera detecció *A. catenella* s'ha detectat en un nombre creixent d'estacions al llarg de la costa catalana, cosa que suggereix una expansió en l'espai. A més a més, dos *blooms* tòxics, extensos, van tenir lloc en aigües costaneres confinades i obertes al llarg de 100 km de costa durant els estius de 1998 i de 1999. En la literatura s'han proposat tres possibles explicacions de l'increment de PAN arreu del món: 1) increment en la recerca i en el coneixement d'aquests fenòmens, 2) estimulació del fitoplàncton deguda a l'efecte de l'eutrofització antropogènica, 3) augment de la dispersió geogràfica a causa del transport de cists de resistència en aigües de llast de vaixells de càrrega o a causa del moviment d'estocs

de mol·luscs d'una àrea a una altra. S'hi analitzen punt per punt les possibles causes de l'aparició i de l'increment d'*A. catenella* a la costa catalana i s'hi proposa una nova possibilitat: l'artificialització de la costa (ports i espigons) crea aigües confinades amb elevats temps de residència de l'aigua, amb baixa turbulència i amb baixa advecció si es comparen amb les aigües costaneres obertes. Com que la baixa turbulència afavoreix les proliferacions de dinoflagel·lades, sumat al seu cicle de vida (formació de cists de resistència) i al comportament específic d'aquests organismes (natació activa, migració vertical i agregació), les dinoflagel·lades poden assolir concentracions elevades en aigües confinades. Així s'arriba a la conclusió que les àrees confinades presenten unes condicions adequades que permeten la colonització, el desenvolupament i el manteniment de dinoflagel·lades i faciliten la posterior expansió cap a àrees properes. Aquestes són les condicions que pensem que han contribuït a l'expansió de la dinoflagel·lada *A. catenella* en el Mediterrani nord-occidental.

Widespread Toxic Events caused by *Alexandrium catenella*

En el capítol 3 es descriuen dos *blooms* tòxics d'àmplia extensió causats per la dinoflagel·lada *Alexandrium catenella*, productora de toxicitat PSP. Aquesta és la primera vegada que es descriu una extensa toxicitat PSP deguda a aquesta dinoflagel·lada al mar Mediterrani.

Aquests *blooms* van tenir lloc als estius de 1998 i de 1999 i van afectar aigües costaneres, confinades i obertes (temperatura entre 20 i 25 °C), al llarg de 100 km de costa. Les concentracions màximes van ser per sobre de 10^6 cells·L⁻¹ en aigües confinades, i per sobre de 10^4 cells·L⁻¹ en aigües costaneres obertes. Es van prendre mostres de bivalves per a l'anàlisi de toxicitat PSP (per bioassaig amb ratolí) i es van detectar nivells de fins a 983 µg PSP/100 g carn de musclo (el màxim permès per a la comercialització de marisc és de 80 µg PSP/100 g carn de musclo).

La distribució espaciotemporal d'*Alexandrium catenella* ens suggereix tres hipòtesis en relació amb l'origen del *bloom*: 1) origen del *bloom* en els ports i expansió posterior cap a les aigües obertes limítrofes; 2) origen del *bloom* en aigües obertes (però en baixes concentracions) i amplificació posterior dins dels ports a causa d'unes condicions més adequades (menys turbulència, temps elevat de residència, acumulació, reducció de la

dispersió cel·lular); 3) *blooms* simultanis a causa de la germinació simultània de cists d'*A. catenella* en aigües confinades i obertes, que es «disparen» per factors ambientals.

Epiphytic dinoflagellates in the Mediterranean Sea

La presència ocasional de dinoflagel·lades bentòniques potencialment nocives al plàncton ens va portar a fer un estudi d'aquests organismes. Durant un cicle anual (1997-98) es va estudiar l'associació de dinoflagel·lades potencialment tòxiques epífites de macroalgues en una platja rocosa, arrecerada i poc profunda de la Costa Brava. L'estudi es va portar a terme en quatre macroalgues: *Corallina elongata* (*Rhodophyceae*), *Dictyocha dichotoma*, *Dilophus fasciola* i *Halopteris scoparia* (*Phaeophyceae*). L'associació estava formada per les dinoflagel·lades *Ostreopsis* sp. (espècie en procés d'identificació), *Coolia monotis* i *Prorocentrum lima*, i *Ostreopsis* sp. era l'espècie dominant. La diatomea *Coscinodiscus* sp. també va ser, numèricament, un important component de la comunitat. No es van observar diferències significatives en la concentració d'epífits en les quatre macroalgues estudiades. Més que un tàxon o filum determinat el que els epífits prefereixen són macroalgues amb estructura tridimensional que els permeti suportar una elevada densitat cel·lular (*carrying capacity*). També es van determinar les concentracions d'epífits a la columna d'aigua i a la sorra. *C. monotis* i *P. lima* hi van ser molt poc abundants. *Ostreopsis* sp. va tornar a ser l'espècie dominant i les seves màximes concentracions van coincidir amb les densitats màximes sobre les macroalgues (però sempre van dominar sobre les macroalgues). El mostreig a petita escala va revelar que tots els organismes epífits preferien hàbitats lleugerament agitats. Però mentre que *Ostreopsis* sp. prefereix hàbitats agitats o lleugerament agitats, *Coolia monotis* prefereix ambients lleugerament agitats o calms. L'associació d'organismes va seguir un clar patró estacional i va assolir les màximes concentracions durant la primavera i durant l'estiu, sense canvis relatius significatius en la composició d'espècies.

L'associació d'organismes epífits ha resultat ser comuna al llarg de la costa catalana i a Mallorca, encara que les densitats de dinoflagel·lades van ser superiors a la Costa Brava. A Còrsega la comunitat va estar dominada per diatomees, i *Ostreopsis* sp. va ser un component minoritari de la comunitat.

Es va comprovar la toxicitat de la comunitat epífita (per injecció intraperitoneal de l'extracte en ratolí) i va resultar que presentava toxines en la fracció aquosa.

Actualment, s'està portant a terme un estudi taxonòmic i genètic d'*Ostreopsis* sp. en col·laboració amb altres laboratoris (Centro Biologia Ambientale, de la Universitat d'Urbino; l'Istituto Sperimentale Talassografico, del CNR; i l'Istituto Oceanográfico Español, de Vigo) per tal de poder identificar l'espècie.

Temporal and spatial distribution of *Pseudo-nitzschia*

En el capítol 5 s'hi presenta un estudi taxonòmic de les diatomees del gènere *Pseudo-nitzschia* (potencialment tòxiques) presents a la costa catalana. El treball s'ha portat a terme amb microscòpia òptica (MO) i electrònica d'escaneig (SEM). S'hi descriu la distribució espaciotemporal del gènere al llarg de la costa catalana i s'hi identifiquen les espècies *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *P. delicatissima* i *P. pungens*. Al llarg del període d'estudi (any 2000) es va observar la màxima abundància de *Pseudo-nitzschia* durant els canvis estacionals de temperatura de l'aigua superficial, quan els valors s'incrementaven de 19 a 24 °C (abril-maig) i decreixien de 24 a 19 °C (octubre). *P. pseudodelicatissima* va presentar altes concentracions (10^6 cèl·ls·L⁻¹) i va ser la màxima responsable dels blooms de primavera i de tardor. Tot i així, al sud es van observar situacions aïllades de concentracions elevades durant l'estiu. A l'octubre es va observar la presència de *P. delicatissima* en diferents estacions i al desembre es va observar *Pseudo-nitzschia pungens* a les estacions del nord. Durant els períodes d'abundància elevada de *Pseudo-nitzschia* spp., la temperatura de l'aigua era superior a 19 °C i presentava un ampli rang de salinitat i de concentració de nutrients.

Per analitzar la comunitat de fitoplàncton en relació amb el gènere *Pseudo-nitzschia*, es va fer una anàlisi de components principals (PCA). La comunitat fitoplanctònica que va acompanyar el gènere va ser sempre diferent i va variar en funció de l'estacionalitat. Així, *P. pseudodelicatissima* va ser present juntament amb una comunitat de dinoflagel·lades durant la primavera-estiu, va estar pràcticament sola a la tardor i barrejada amb *P. delicatissima* i altres diatomees durant el juliol-setembre. Encara que aquestes espècies són potencialment

productores d'àcid domoic, no es van detectar intoxicacions relacionades amb mostres de marisc de Catalunya.

Phytoplankton assemblages in confined waters of the NW Mediterranean

En el context de la investigació sobre proliferacions algals nocives (PAN) es menciona repetidament que reduir el monitoratge a tan sols algunes espècies d'interès pot reduir molt la capacitat de predicció, així com el coneixement de les causes i dels factors que determinen que una espècie en concret prolifera formant un *bloom*. Una altra possibilitat és caracteritzar grups funcionals (agrupacions no-filogenètiques d'organismes, basades en la fisiologia, en la morfologia o en altres trets que responen de forma similar a patrons recurrents de determinats factors) i determinar les àrees concretes i les èpoques de l'any de màxim risc de patir PAN.

Els resultats de l'estudi realitzat en nou estacions durant l'any 1996 indiquen que la comunitat de fitoplàncton en totes les estacions (més o menys confinades) està regida per un marcat component estacional. La comunitat de fitoplàncton a les aigües confinades del litoral català és la mateixa, i la diferència està en les concentracions. Així, les aigües confinades es caracteritzen pel fet de presentar concentracions més elevades de dinoflagel·lades formadores de *blooms* que les de les aigües lliures (excepte en situacions de proliferacions de mesoscala, que són poc freqüents a l'àrea d'estudi). També s'ha trobat una relació directa entre la quantitat d'aigua confinada i la magnitud de les proliferacions de dinoflagel·lades (i la probabilitat que hi hagi proliferacions).

Las agrupacions d'espècies resultants de l'anàlisi multivariant són: «dinoflagel·lades tòxiques i formadores de *blooms*», «dinoflagel·lades oceàniques», «nanoflagel·lades», «diatomees d'estiu-tardor», «diatomees d'hivern-primavera». S'observa que les espècies fitoplanctòniques de les aigües confinades tendeixen a agrupar-se d'acord amb llurs afinitats taxonòmiques. No obstant això, durant els mesos càlids i en aigües confinades coexisteixen i fan *blooms* les «dinoflagel·lades formadores de *blooms*» i «diatomees d'estiu-tardor». Es tracta d'un grup funcional característic de les situacions de risc de PAN.

A la taula que ve a continuació es resumeixen les característiques de les principals espècies formadores de PAN detectades al llarg d'aquest estudi.

Espècie	Hàbitat*	Toxicitat potencial o nocivitat	Toxicitat* a l'àrea d'estudi	Conc. màxima (cells·L ⁻¹)	Època del 'bloom'	Tipus de 'bloom'
<i>A. catenella</i>	plàncton	PSP	positiva	> 10 ⁶	maig-set.	local + extens
<i>A. minutum</i>	plàncton	PSP	positiva	> 10 ⁶	tot l'any	local
<i>A. taylori</i>	plàncton	descoloració	negativa	> 10 ⁶	juliol-set.	local
<i>D. caudata</i>	plàncton	DSP	?	10 ³	juliol-agost	local
<i>D. sacculus</i>	plàncton	DSP	positiva	10 ⁴	maig-set.	local + extens?
<i>G. corsicum</i>	plàncton	ictiotòxic	positiva	> 10 ⁶	nov.-abril	local
<i>G. impudicum</i>	plàncton	descoloració	negativa	> 10 ⁶	juliol-agost	local + extens
<i>Ostreopsis</i> sp.	bentos + plàncton	DSP + ciguatoxines?	positiva	10 ^{4*}	primavera (bentos)	local
<i>Ph. rotundatum</i>	plàncton	DSP	?	10 ³	maig-juny	local
<i>P. mexicanum</i>	plàncton + bentos	DSP	?	10 ⁴	juliol-nov.	local
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	plàncton	ASP	negativa	> 10 ⁶	primavera i tardor	local + extens

Hàbitat*: de les cèl·lules vegetatives (en negreta, l'hàbitat on l'espècie hi és més abundant)

Toxicitat*: analitzada per bioassaig amb ratolí

10^{4*} al plàncton; al bentos, 10⁵ cells·g⁻¹ pes fresc macroalga

Conclusió

A la costa catalana hi ha una incidència elevada de PAN, però generalment no es tracta de fenòmens de mesoscala associats amb fronts tal com s'ha descrit en altres zones, sinó que en la major part dels casos es tracta de fenòmens d'escala petita, moltes vegades aïllats (que poden generalitzar-se en determinades condicions). Per tant, front a d'altres models de generació de mareas roges governades per fenòmens de mesoscala oceànica, i modificades localment per factors d'escala petita, tenim el model Mediterrani en el que la generació es donaria per coincidències de fenòmens d'escala petita que poden generalitzar-se en determinades condicions, depenent de fenòmens de mitja escala.

Relacionem l'elevada i creixent incidència de PAN amb la creixent presència i acció humana sobre la costa: vessaments de nutrients i, bàsicament, modificació de la línia de la costa creant ambients d'aigües confinades. Aquests ambients presenten unes condicions adequades que permeten la colonització, el desenvolupament i el manteniment de dinoflagel·lades i la posterior expansió cap a àrees properes. No oblidem que les dinoflagel·lades són el grup de fitoplàncton màxim responsable de proliferacions massives i/o intoxicacions. Les dinoflagel·lades, amb el seu cicle de vida particular (formació de cists de resistència) i el seu comportament específic (natació activa, migració vertical i agregació), poden assolir concentracions elevades en aigües confinades.

Les proliferacions de dinoflagel·lades bentòniques i epífites habitualment s'escapen dels programes de control de PAN. Aquí hem posat esforços per estudiar aquestes comunitats, que han resultat ser ben comunes al llarg de la costa i amb concentracions d'organismes tòxics ben elevades (sobretot a la Costa Brava).

Finalment, a banda de les dinoflagel·lades que són els grup de fitoplancton que ocasiona més problemes a Catalunya i arreu del món, s'han identificat diatomees el gènere *Pseudo-nitzschia*. Aquest gènere és ben comú i abundant al llarg de la costa (bàsicament a la primavera i a la tardor), tot i que les màximes concentracions s'assoleixen a la zona del delta de l'Ebre

