

# *Pfiesteria piscicida* (Dinoflagellata, Protista)

Samiye RASTGELDİ<sup>1</sup>, Yusuf ÖZBEL<sup>2</sup>, Bayram GÖÇMEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, Protozooloji-Parazitoloji Araştırma Laboratuvarı, Bornova, İzmir; <sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

**ÖZET:** Diğer dinoflagellatlardan farklı olarak, aerosol toksinlerle solunum yoluyla veya toksinli suyla temas halinde deri yoluyla insanlara da zarar verebilen *Pfiesteria piscicida*'nın öldürme aktivitesini, deniz suyunu kirleten organik atıkların (kanalizasyon, sanayi atıkları vs.) uyardığı anlaşılmıştır. Bu dinoflagellatın insan ve balıklar üzerindeki etkileri, yaşam döngüsü ile ilgili bugüne dek elde edilen bilgiler derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Pfiesteria piscicida*, dinoflagellat, balık

## ***Pfiesteria piscicida* (Dinoflagellata, Protista)**

**SUMMARY:** *Pfiesteria piscicida* belonging to Dinoflagellates has been damaged to human by breathing of aerosolizable toxins or touching with water containing toxins. Organic or inorganic waste are stimulated killing activity of *P. piscicida* on fish. The basic knowledge about life cycle and effects on fish and human of this microorganism are summarized in the review.

**Key words:** *Pfiesteria piscicida*, dinoflagellate, fish

## GİRİŞ

1995 yılında, Kuzey Carolina'nın Neuse Körfezi, yüz binlerce balığın kanlı, ölü bedeniyle kaplandı (3). Bunların çoğu, ticari balıkçıların değerli saydığı büyük türler için besin teşkil eden küçük, Atlantik Ringa balıklarıydı. Kuzey Carolina Üniversitesinden bir ekip, ölümlerin nedenini araştırmak için alandan su örnekleri topladı. Balıklardaki kanlı yaralar ve tuhaf davranışlar toksik bir *Pfiesteria piscicida* salgınının işaretlerini vermekteydi. Bu, ilk defa 1989'da görülen ve daha sonradan birçok büyük körfezdeki balık ölümleriyle bağlantılı olduğu anlaşılan tek hücreli bir mikroorganizmadır (5) (Şekil 1). Bu ölümler sona erdiğinde su yüzeyini 15 milyon gümüş rengi ceset kaplamıştır.

1991'de de bu körfezde bir milyar balık aynı şekilde ölmüştür (1, 3, 5). O günden beri Kuzey Carolina körfezlerinde hemen hemen her yıl görülen kitlesel balık ölümlerinden *Pfiesteria* ve onunla çok yakın ilişkili ancak isimsiz toksik bir türün sorumlu olduğu düşünülmeye başlanmıştır. Bu iki tür toksik *Pfiesteria* kompleksinin ilk üyeleridir. Bunların içine, aynı gibi görünen ancak henüz kesin olarak tanımlanmamış diğer türler de girebilir. Bunların hepsinden genel olarak "*Pfiesteria*" diye bahsedilecektir.

Kuzey Carolina Üniversitesi'nden Prof. Joann Burkholder, 10 yıldan uzun süredir bu konu üzerinde çalışmaktadır (1-3). *Pfiesteria*'nın hayat döngüsü, çoğalması ve toksik salgılarının nedenleri konusunda birçok noktayı aydınlığa kavuşturmuştur. *Pfiesteria*'nın, dahil olduğu geniş mikroorganizma grubunda (Dinoflagellatlar'da) daha önce görülmeyen özellikleri göz önüne seren hayret verici bir

organizma olduğunu görmüştür. Binlerce tür içeren Dinoflagellat'lar, isimlerini yaşam döngülerinin en azından bir kısmında sahip oldukları ve girdap gibi dönerek hareket etmelerini sağlayan kamçılardan almaktadırlar.



**Şekil 1.** *Pfiesteria piscicida* (Dinoflagellata, Protista)'nın Zoospor safhası [<http://www.pfiesteria.org> (5)'den].

1988 yılında, Kuzey Carolina Üniversitesi Veterinerlik Bölümündeki tuzlu su tanklarındaki balıkların esrarengiz bir şekilde ölmeye başlamaları sonucu veterinerler bunun nedenini araştırmaya başlamışlar ve suda yüzen bir mikroorganizma farketmişlerdir (3, 5). Mikroskopik incelemeler sonucu bunun bir Dinoflagellat olduğu anlaşılmıştır. Daha sonra bu mikroorganizmaların sayısının balıkların ölümünden

kısa bir süre önce artmış olduğu ve balıkların tükenmesinden sonra da bu mikroorganizmaların yok olduğu görülmüştür. Tanka yeni canlı balıklar konulduğunda tekrar ortaya çıktıkları gözlemlenmiştir. Bu laboratuvarında, dünyanın her yerinden balıklar incelendiği için kimse bu organizmanın nereden gelmiş olabileceğini tahmin edememişlerdir. 1989'da mikroorganizmayı tanımlamak ve balık ölümlerinden sorumlu olup olmadığını açıklığa kavuşturmak için Botanik Bölümü'nden yardım istenmiştir (3).

Araştırma grubu kısa süre sonra, bu canlının hayatının bazı dönemlerindeki formlarının diğer toksik ve non-toksik Dinoflagellat'lara hiç benzemediğini farketmiştir. Bu mikroorganizma aynı zamanda, az sayıdaki toksik dinoflagellatlar arasında da tektir. Çünkü bu toksik türler (ki bunlar yaklaşık 60 tanedir) doğada keşfedilen en güçlü zehirlerden bazılarını üretmektedirler ancak bunu belirli bir amaç için yaptıkları görülmemiştir (4). Bu yeni bulunan organizma ise balıkları sadece zehirlenmekle kalmayıp aynı zamanda yemektir.

*Pfiesteria piscicida* ortamda balık olmadığı zaman toksik değildir ancak suda balık dışkısı yada salgısı algıladığı zaman, hem toksin salgılar hem de direkt balık materyaline doğru yüzmeye başlar. Toksinler, balığın derisini soyar, sinir sistemine ve hayati organlarına zarar verir. Balık kaçamayacak kadar bitkin düşer. Daha sonra diğer zarar verici mikropların saldırısına maruz kalır. Derinin zarar gördüğü yerlerde kanayan yaralar meydana gelir. Dinoflagellat'lar kaçmaktan aciz kalmış balıkla birlikte, yaradan sızan kan doku ve diğer maddelerle beslenir. Sonunda öldürücü hücreler yüzen kamçılı formlardan, daha amorf amip formuna dönüşürler. Bu amipler de kurbanın kalıntılarıyla beslenir. Bazen o kadar çok besin alırlar ki hareket edemeyecek duruma gelirler.

Araştırmacılar, *Pfiesteria*'nın diğer toksik Dinoflagellat'larda hiç görülmemiş olan başka bir özelliğini daha keşfetmişlerdir. Bu organizma, hayat döngüsü boyunca en az 24 değişik forma görülmemiş bir ustalıkla dönüşebilir. Mevcut besin kaynaklarına göre şeklini ve boyutlarını değiştirir. Bu besin kaynakları da, bakterilerden memeli dokusuna kadar besin zincirinin herhangi bir halkası olabilir. Bir evreden başka bir evreye geçmesi bazen 10 dakikadan az bir sürede gerçekleşebilir ve boyutları 125 kattan daha fazla artabilir.

Bilim adamları nereden gelmiş olabileceğini bilmeden 2 yıl boyunca akvaryum tanklarında *Pfiesteria*'yı incelemişlerdir. Buradan elde ettikleri bilgiler cevabın bulunmasına yardım etmiştir. 1980'lerin ortalarından beri her yıl Kuzey Carolina'nın Neuse nehrini de içine alan Albemarle-Pamlico Körfez Sistemi'nde kitlesel balık ölümleri görülmektedir. 1991'de araştırmacılar Pamlico Körfezi'ndeki yaklaşık bir milyon Atlantik Ringa Balığının öldüğü bir salgında bölgeden su örnekleri almışlardır (3). Örnekler Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)'nda incelendiği zaman veterinerlik bölümündeki akvaryumlarda bulunan Dinoflagellat'larla aynı gibi görünen mikroorganizmalar görülmüştür (Şekil 1). Üstelik tıpkı tanklarda olduğu gibi ölümler durduğu zaman

hücreler ortadan kaybolmuştur. Ölümünden bir gün sonra yüzen balık kalıntıları arasından alınan su örneklerinde bulunamamışlardır.

Bu çalışma Veterinerlik bölümündeki kontaminantın olası orijini konusunda bir ipucu vermekle kalmamış aynı zamanda doğadaki balık ölümlerinin önemli nedenlerinden birinin *Pfiesteria* olduğunu göstermiştir. *Pfiesteria* bu gizli ihanetinde yalnız değildir. Zararlı algler dediğimiz bir grup organizma da söz konusudur. Bu terimden de anlaşılacağı üzere bu seçilmiş kategori, gerçek algleri içerir. Yani kendi yiyeceğini fotosentez yaparak elde eden primitif bitkiler. Fakat aynı zamanda çoğunlukla tek hücreli, alg gibi görünen ama bitki olmayan *Pfiesteria* gibi çok çeşitli canlıları da içermektedir.

Acaba *Pfiesteria*'nın bu toksik salgılarına hangi faktörler sebep oluyor ?. Birçok araştırma göstermektedir ki *Pfiesteria* binlerce yıldır bu bölgede bakteri, alg ve küçük hayvanlar gibi diğer organizmalar üzerinde toksik olmayan bir predatör olarak yaşamaktaydı. Ancak Albemarle-Pamlico körfez sistemindeki Nitrojen ve Fosfor gibi nutrientlerin miktarının aşırı derecede artması gibi insan etkileri sonucu *Pfiesteria*'nın öldürme aktivitesi teşvik edilmiştir. Sular nutrient bakımından zenginleştiği zaman alg'ler çoğalmakta ve *Pfiesteria* için zengin bir besin kaynağı oluşturmaktadır. Hızlı bir şekilde üremeye başlayan *Pfiesteria* bu sulara gelen balık sürülerine saldırıya hazır hale gelmektedir.

Yapılan çalışmalar sonucu, *Pfiesteria*'nın balıklar için büyük oranda öldürücü olduğu, aynı zamanda tek kurbanının balıklar olmadığı, insanları da etkileyebildiği anlaşılmıştır. Diğer toksik Dinoflagellat'lar insanlara toksin yüklenmiş deniz mahsulleri yoluyla zarar verir. Ancak David Green ve arkadaşları *Pfiesteria* toksinlerinin balıklarda birikebildiği konusunda fazla kanıt bulamamıştır. Aslında insanların bu Dinoflagellat'tan etkilenmesi daha direkt bir yolla olabilmektedir. Deri yoluyla toksin yüklü suyu aldıkları zaman insanlar tehlikeli bir biçimde hasta olabilirler. Hatta balıkların toksik *Pfiesteria* ile yaralandığı veya öldüğü yerlerdeki havanın solunmasıyla bile etkilenme olabilmektedir.

Kuzey Carolina Üniversitesi Botanik Bölümündeki araştırmacılar bu son bahsedilen etkiyi bizzat yaşamışlardır. Çalışmalara ilk başladıkları zaman, toksik Dinoflagellat'larla çalışırken uygulanan normal güvenlik prosedürlerini uygulamışlardır. Diğer toksik dinoflagellatlardan etkilenme, ancak laboratuvarlarda, kontamine olmuş sularla temas olunca söz konusudur. Fakat *Pfiesteria*, aerosolize olabilen (havaya karışabilen) ve insanlara ciddi bir şekilde zarar veren bir toksin üretir ki bu, bir Dinoflagellat'ta ilk defa görülen bir özelliktir.

Semptomların önceleri diğer sebeplere bağlanabilecek kadar karışık olduğu belirtilmektedir:

- Astima bağlanan soluk kesilmeleri,
- kaşıntılı hafif yanan gözler veya boğazda bir gıcık gibi allerji benzeri problemler,
- stresten kaynaklandığı sanılan başağrıları ve unutkanlık.

Sonra 1992'de bir akşam, Howard Glasgow, daha önce bu grubun *Pfiesteria* ile çalıştığı ve bir süredir temizlenmeyen laboratuvarında çalışırken duvarların buharlaşmış toksin yüklü *Pfiesteria* kültürü ile kaplanmış olduğunu görüp duvardan silip çıkarmaya çalışmış. Fakat birkaç dakika sonra gözleri yanmaya, güçlüğüle soluk alıp vermeye başlamış. Koordinasyonunu (yön duygusunu) kaybetmiş, ayakları uyuşmuş ve kusmaya başlamış. Laboratuvarından sürünerek çıkmayı başarabilmiş (1, 3).

Bu olayın, odanın ekstrem koşulları nedeniyle gerçekleştiğini ve daha kontrollü, daha bakımlı bir laboratuvarında bu şekilde hasta olmayacağını düşünmüşler. Bu laboratuvarında tekrar çalışmayı reddetmişler ve daha iyi imkanların sağlandığı yeni bir laboratuvara geçmişler. Bu yeni laboratuvarın iyi bir şekilde havalandırıldığı sanılıyormuş. Fakat yapılan bir yanlışlık sonucu toksik kültürün bulunduğu laboratuvarın havası direkt olarak Howard Glasgow'un ofisine gidecek şekilde pompalanıyormuş.

Sonraki birkaç ay süresince bu normalde gülyüzlü bilim adamı aşırı derecede ters, huysuzca davranışlar göstermeye başlamış. Çok basit konulara dahi dikkatini toplayamayacak duruma gelmiş. Güçlü bir hafızaya sahip, üstün zekalı bu insan aniden günün ilk saatlerinde yapılan konuşmaları hatırlayamaz olmuş. Sonunda yoğun bir laboratuvar çalışmasından sonra, uzun dönem hafızası bile kayba uğramış. Evinin yolunu veya telefon numarasını hatırlayamaz, hatta okuyamaz duruma gelmiş. Konuşmada zorluklar başlamış, 2 aylık bir uzak kalma evresinden sonra iyileşip işine geri dönmüş. Nihayet, *Pfiesteria*'nın havaya karışan bir toksin üretebildiğini farkedene kadar 4 farklı laboratuvarından 12 kişi bu toksik kültürden etkilenmiş.

Bugün bu araştırmalar, özel olarak dizayn edilmiş ve AIDS virüsü ile yapılan araştırmalardakinden daha fazla önlemin alındığı laboratuvarlarda yapılmaktadır. Full başlıklı solunum cihazları, dekontaminasyon bölmeleri, hava emniyetleri bulunmaktadır.

Doktorlar bu *Pfiesteria* sendromunu kesin olarak teşhis etmede güçlük çekmektedirler. Çünkü bu spesifik toksinler maalesef hala tanınıp ayırılmamış durumda değildir. Bu bilgi olmadan kimyasalın vücutta nasıl etki ettiğini bulmak ve kan ve dokuda bu toksini kesin olarak ayırdedecek testleri yapmak olanaksızdır. Ancak bu konudaki çalışmalar devam etmektedir. Charleston'daki Doğal Okyanus Araştırmaları Servisinden Peter Moeler ve John Ramsdell, bu toksinin komponentlerini yarı saflaştırmayı başarmışlardır (3).

### ***Pfiesteria*'nın Yaşam Döngüsü**

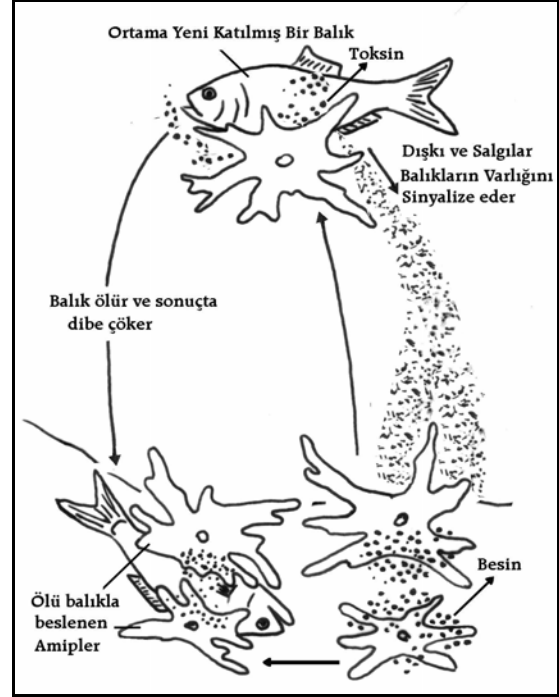
*Pfiesteria piscicida*, renksiz, tek hücreli bir organizmadır (Şekil 1). 24 farklı forma görülmemiş bir ustalıkla dönüşebilir (Şekil 2-5).

Sıcak mevsimlerde büyük sürüler halinde yağlı balıkların bölgeye gelişi bu canlılarda bir kişilik transformasyonunu harekete geçirir. Balıklar gelmeden önce hücreler 3 temel formdan herhangi

birinde bulunurlar. Bu formlar;

- Çeşitli amorf amipler :Algleri ve taban çamurundaki diğer avları yutarak beslenirler.
- Kist haline geçmiş çeşitli büyüklükteki hücreler: Dayanıklı bir örtüyle korunurlar.
- Toksik olmayan zoosporlar: İyi huylu, yüzen hücrelerdir.

Balıklar geldiği zaman non-toksik zoosporlar toksik hale gelir. Birkaç dakika veya saat içinde de kistler ve amipler, daha sonra toksik hale gelecek olan non-toksik zoosporlara dönüşürler (Şekil 3).

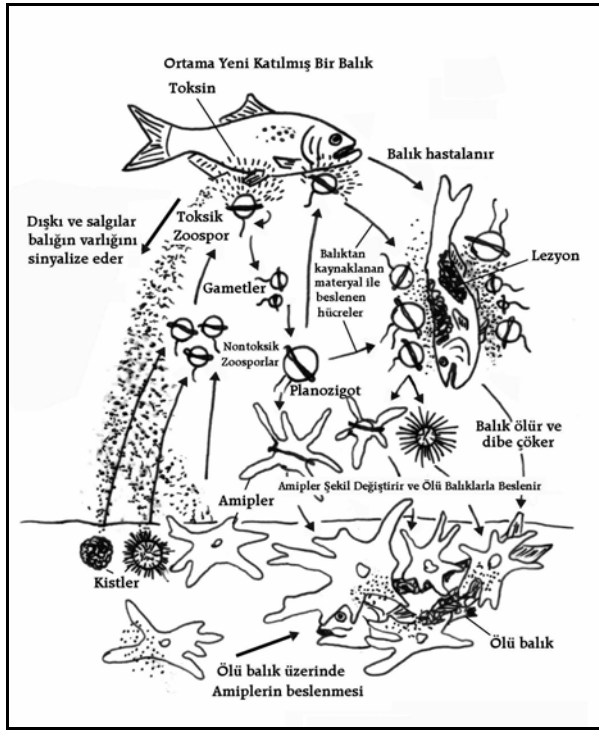


**Şekil 2.** Ortamda balık bulunuyor ve su tuzlu, durgun ve de soğuksa (yaklaşık 12-15 °C) *Pfiestrea piscicida* da görülen yaşam döngüsü (Bu veriler akuakültür testlerine dayanır) (3'den değiştirilerek).

Bu arada toksik zoosporlar aseksüel olarak çoğalırlar aynı zamanda gametleri de meydana getirirler. Bu gametler birleşerek planozigot dı verilen seksüel formu meydana getirecektir. Salgılanan toksinler nedeniyle balıklarda büyük yaralar oluşur. Toksik zoosporlar, planozigotlar ve gametler yaralardan sızan maddelerle beslenirler. Balık öldüğü zaman hücrelerin çoğu amip formuna dönüşür ve balık kalıntılarını yemeye başlar (Şekil 3).

Laboratuvar testleri ve gözlemleri göstermektedir ki balıklar soğuk sularda da tehlikeyle karşı karşıya kalabilmektedir. Sisteme katılan balıklara tankların dibindeki büyük amipler hemen saldırabilir, onları öldürüp yiyebilir (Şekil 2).

Suda ölü balık kalmadığı zaman eğer ortam algler ve diğer besinler açısından zenginse, toksik zoosporlar ve gametler tekrar non-toksik hale dönerler. Bu arada belli hücreler amip veya hipnozigot (bir çeşit gizli kist) da oluşturabilirler (Şekil 4).



**Şekil 3:** Ortamda balık bulunuyor ve su tuzlu, durgun fakat sıcaksa (çoğunlukla 27 °C ve daha üzeri sıcaklıklarda) *Pfiesteria piscicida*'da görülen yaşam döngüsü (Bu döngü doğada balık ölümleri sırasında görülen tipik durumdur) (3'den değiştirilerek).

Dip çamurundaki amipler ve kistler, toksik olmayan zoosporlar meydana getirirler. Bunlar iyi beslenir ve çoğalır fakat başka bir balık sürüsü belirlediği zaman çabucak tekrar toksik saldırganlar haline dönüşürler.

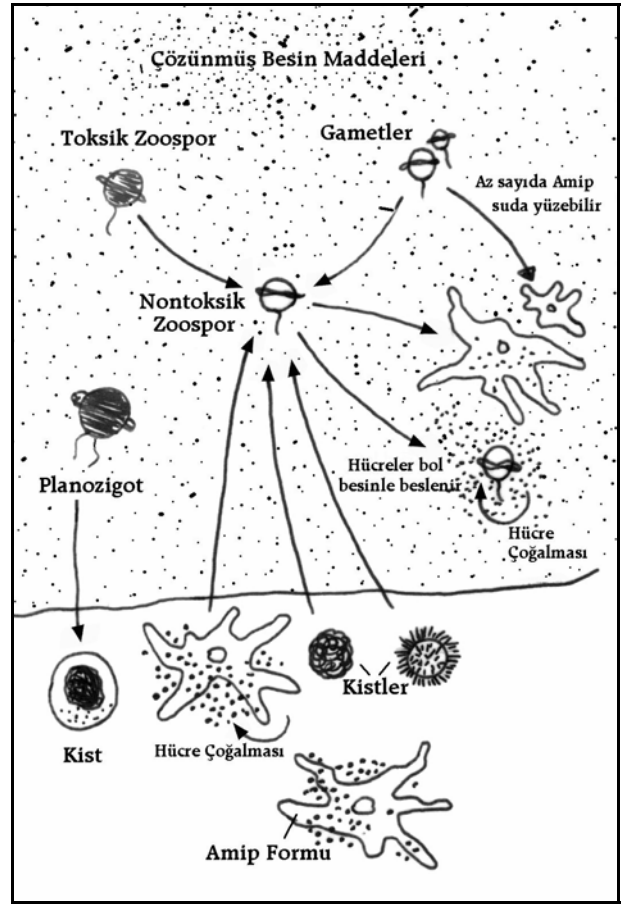
Besin açısından daha fakir ve uygun olmayan ortamlarda ise kamçı hücreler çamurda çöp yiyen amipler olarak yaşamayı seçerler (Şekil 5).

Suyun elverişsiz şekilde akıntılı olması durumunda bile yüzen hücreler ve amipler kist durumuna geçerek kötü koşullara dayanabilirler (Şekil 5). Bu kistlerin 35 gün boyunca kurutulduklarında veya 30 dakika boyunca konsantre asidik ya da bazik ortamda bekletildikleri zaman bile % 20'si hayatta kalabilir.

Bu usta fırsatçı, *Pfiesteria piscicida* bazen hırsızlığa bile başvurabilir. Kendi başına fotosentez yapması mümkün değildir fakat kleptokloroplastidi (Kleptochloroplastidy) denilen bir yöntemle zoosporlar kloroplastları veya fotosentetik diğer organelleri yedikleri alglerden çalarlar. Bunları günlerce yada haftalarca enerji oluşturmak için kullanırlar.

Bazı uzmanlar son 15 yıl içinde bazı zararlı alg salgınlarının sıklığının, dağılımlarının ve şiddetlerinin dünyanın birçok yerinde arttığını göstermektedir.

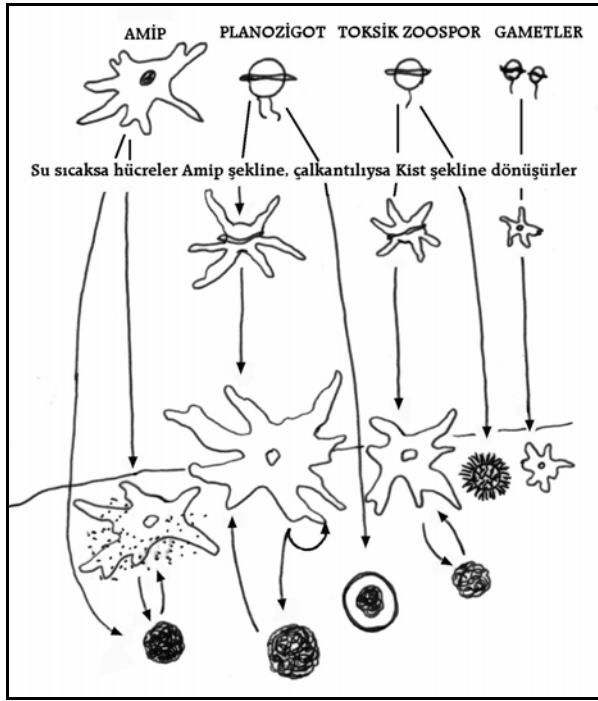
Bazı Dinoflagellat'lar, Ciguatera toksini üretmektedir ve bu toksin kaya balıklarının vücutlarında onları öldürmeden



**Şekil 4:** Ortamda balık yoksa ve su tuzlu, durgun ve de diğer besinler (kanalizasyon veya diğer kaynaklardan gelen organik bileşikler ve mikroorganizmalar) açısından zenginse *Pfiesteria piscicida*'da görülen yaşam döngüsü (3'den değiştirilerek).

birikebilmektedir. Bu balık insanlar tarafından besin olarak yakalanacak kadar büyüebilmekte ve onları hasta edebilmektedir. Semptomlar yıllarca sürebilmektedir. Ciguatera toksinleri aynı zamanda T-lenfositlerin normal fonksiyonunu da engelleyerek bağışıklık sistemini baskılayabilir.

İki tip kanser: yayılmış neoplazi ve germinomas, mavi midyeler ve yumuşak kabuklu midyeleri etkileyebilmektedir. Araştırmalar bu kanserler ile Saksitoksin salgılayan Dinoflagellat'lar arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu toksinler kontamine olmuş midyeleri yiyen insanlarda öldürücü zehirlenmelere yol açanlarla aynıdır. Akut saksitoksin zehirlenmesinden sonra iyileşen insanlar yıllarca nükseden malaria benzeri semptomlar yaşamaktadırlar. Avrupa sahillerinde bulunan toksik Dinoflagellat'lardaki Okadaik asit insanlarda diareye neden olmaktadır. Ancak daha küçük ama kronik dozlar insan dokusunda ve laboratuvar ratlarında tümörlere bile neden olabilmektedir. Okadaik asit aynı zamanda beyin Hippokampusundaki hücrelere de zarar verebilmektedir. Burası hafızada önemli bir bölgedir.



Şekil 5. Ortamda balık yoksa, keza su akıntılı veya diğer besinler açısından fakirse *Pfiesteria piscicida*'da görülen yaşam döngüsü (3'den değiştirilerek).

Bazı zararlı alglerin istenmeyen etkilerini yok etmek için ilk olarak bilim adamlarının düşmanı daha iyi tanımaları gerekmektedir. Ayrıca toksinlerin kimyasal olarak karakterize edilmeleri ve böylece sular tehlike işaretleri gösterdiği zaman bunu anlayabilecek uyarı sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Daha önce de bahsedildiği gibi *Pfiesteria* ve grubun diğer üyelerinin gelişmelerini besin kirliliği stimüle etmektedir. Bazı ekologlar nutrientlerin aşırı derecede artmasının ve diğer kirlilik tiplerinin birçok sucul ekosistemde ciddi ve

genel bir dengesizliğe yol açtığına inanmaktadırlar. Sulak alanların giderek azalması (ki bu alanlar dünyanın böbrekleri olarak iş görürler) su yollarının kendi kendilerini temizleme yeteneklerini engellemektedir. Bazı alg patlamaları, El Nino olaylarıyla aynı zamana rastgelmiştir. Bu da bize global iklimdeki ısınma eğiliminin, bu türlerin büyümesini stimüle ettiğini ve bulunma oranlarını yükselttiğini düşündürmektedir. Bu iklimsel değişiklikler, nehirlere daha fazla nutrient taşıyan ve kirliliği arttıran sellere de yol açmaktadır.

Bugün dünyada eskisinden çok daha fazla insan yaşıyor. Temiz içme suları gittikçe artan oranlarda kullanılıyor. Tatlısuları ve deniz sularını kirleten çöpler üretiliyor. Su kalitesi, insan ve balıkların sağlıkları birbirine sıkı bir şekilde bağlıdır. Balık ölümlerini sınırlı ve izole krizlermiş gibi düşünmek yerine su yollarının durumlarını belirlemeli ve bu zararlı alglerin akut ve kronik etkilerini öğrenmek için daha fazla çaba harcamalıyız. Savunmasız balıkları gözetirken koruduğumuz sağlığın aynı zamanda kendimizin sağlığı olabileceğini unutmamalıyız.

#### KAYNAKLAR

- 1- Burkholder JM, Noga EJ, Hobbs CW, Glasgow HB, 1992. New "phantom" dinoflagellate is the causative agent of major estuarine fish kills. *Nature*, 358:407-410.
- 2- Burkholder JM, 1998. Implications of harmful microalgae and heterotrophic dinoflagellates in management of sustainable marine fisheries. *Ecological Applications*, 8 (1. suppl.): 537-562.
- 3- Burkholder JM, 1999. The lurking perils of *Pfiesteria*. *Sci. Amer.*, August issue, pp. 28-35.
- 4- Landsberg J, 1996. Neoplasia and biotoxins in bivalves: Is there a connection?. *J. Shellfish Res.*, 15 (2): 203-230.
- 5- The web site of The Aquatic Botany Laboratory at North Carolina State University, 2001. The toxic *Pfiesteria* complex. [www.pfiesteria.org](http://www.pfiesteria.org).