



INFORME FINAL CORREGIDO

Textos

Convenio Desempeño 2018:

Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en las
regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes,
etapa XII 2018-19

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Junio 2019



INFORME FINAL CORREGIDO

Textos

Convenio Desempeño 2018:
Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas
en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes,
etapa XII 2018-19

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Junio 2019

REQUIRENTE

**SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMPRESAS
DE MENOR TAMAÑO**

Subsecretaria de Economía y EMT
Ignacio Guerrero Toro

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Director Ejecutivo
Luis Parot Donoso

Jefe División Investigación en Acuicultura
Leonardo Guzmán Méndez

JEFE DE PROYECTO

Leonardo Guzmán Méndez



SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Junio 2019

AUTORES

Leonardo Guzmán Méndez
Oscar Espinoza González
Pamela Carbonell Arias
Rodrigo Martínez González
Jorge Mardones Sánchez
Gemita Pizarro Nova
Pablo Salgado Garrido
Gonzalo Fuenzalida del Río
Elías Pinilla Matamala
Valentina Besoain Meneses
Emma Cascales Hellman
Mauricio Palma Alarcón
Gissela Labra Holzapfel
María José Calderón Nash
Loreto López Rivera
Julia Cáceres Chamizo
Karen Correa Sepúlveda
Luis Iriarte Bustamante
Verónica Muñoz Ojeda
María Fernanda Cornejo Acevedo
Hernán Pacheco Valle
Cesar Alarcón Zapata
Carolina Toro Ruiz
Lorena Ramírez Epple
Bianca Olivares Olivares
Rosa González González
Carolina Soto Castillo
Claudia Zamora Amstein

COLABORADORES

Pedro Calabrano Miranda
Adán Navarro Vera
Roberto Raimapo Raimapo
Jorge Toro Mancilla
Darwin Retamal Caimapo
José Ojeda Millaldeo

T O M O I

TEXT O



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi
RESUMEN EJECUTIVO	1
1. INTRODUCCIÓN	4
2. ANTECEDENTES	6
3. OBJETIVOS	8
3.1 Objetivo general	8
3.2 Objetivos específicos	8
4. METODOLOGÍA	9
4.1 Metodología Objetivo Específico 1	9
Estaciones y frecuencia de muestreo	9
Sub-Programa de Monitoreo Regular	9
Sub-Programa Vigilancia y Fiscalización	9
Sub-Programa Raúl Marín Balmaceda	9
Muestreo transvectores y detección de toxinas	10
4.2 Metodología Objetivos Específicos 2 y 3	11
Estaciones y frecuencia de muestreo	12
Muestreo de fitoplancton	12



Análisis de fitoplancton	13
Configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total durante el periodo marzo 2018 a febrero 2019	14
4.4 Metodología Objetivo Específico 4	16
Recolección de datos oceanográficos	16
Recolección de información meteorológica	16
Toma de muestras y análisis de nutrientes	16
4.5 Metodología Objetivo Específico 5	17
Modelación numérica	17
Modelo físico	18
Modelo atmosférico regional (WRF)	18
Modelo hidrodinámico MIKE 3D FM	18
Modelación biológica	19
Modelación biogeoquímica	20
Evaluación modelos numéricos	21
Conocer las tasas de máximo crecimiento de <i>A. catenella</i> a distintos rangos de temperatura, salinidad, nutrientes	22
Explorar nuevos sitios dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas, donde realizar nuevos ejercicios de modelación	23
Registro de parámetros oceanográficos y meteorológicos en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf	24
4.6 Metodología Objetivo Específico 6	25
Análisis de patrones climáticos de gran escala y su relación con FANs en fiordos y canales del sur de Chile de la regiones de Los Lagos y Aysén	27
Abundancia del micro-fitoplancton y <i>Alexandrium catenella</i> , en relación con los índices climático-oceanográficos en la región de Magallanes, Chile: periodo 1997-2017	28
Cobertura geográfica de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas y paralizante durante los últimos 20 años en el ecosistema de fiordos y canales sub-antárticos	29
Contenido y perfil de toxinas en poblaciones naturales de <i>Alexandrium catenella</i> en canales del sur de Chile	31
Registro de dinoflagelados de los géneros <i>Karenias</i> , <i>Azadinium</i> y <i>Amphidoma</i> en la región de Magallanes	33



Respuesta a variaciones en salinidad y potencia citotóxica de <i>Pseudochatonella verruculosa</i> aislada desde el seno de Reloncaví	34
Identificación molecular de los dinoflagelados <i>Alexandrium catenella</i> y <i>Alexandrium ostenfeldii</i>	36
Quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos de Los Lagos, Aysén y Magallanes	39
4.7 Metodología Objetivo Específico 7	40
Sistema de distribución de la información	40
4.8 Metodología Objetivo Específico 8	41
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
Aspectos generales	42
5.1 Objetivo Específico 1	42
Distribución de toxinas en la macroregión sur-austral, Etapa XII	42
Toxina VPM	42
Toxinas Lipofílicas	43
Toxina VAM	44
5.2 Objetivo Específico 2 y 3	44
Análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de la especie <i>Alexandrium catenella</i> y <i>Alexandrium ostenfeldii</i> para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.	44
Análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de las especies <i>Dinophysis acuminata</i> , <i>Dinophysis acuta</i> y <i>Protoceratium reticulatum</i> para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.	48
Análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de las especies <i>Pseudo-nitzschia cf australis</i> y <i>Pseudo-nitzschia cf pseudodelicatissima</i> para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes	49
Configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total durante el periodo marzo de 2018 a febrero de 2019	53
5.4. Objetivo Específico 4	56
Análisis general de la base de datos de nutrientes entre el 2017 y 2018	56
5.5. Objetivo Específico 5	57
Modelación numérica	57
Comparación del modelo hidrodinámico con datos in-situ	57



Conocer las tasas de m3ximo crecimiento de <i>Alexandrium catenella</i> a distintos rangos de temperatura, salinidad y nutrientes	62
Explorar nuevos sitios dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas, donde realizar ejercicios de modelaci3n	62
Registro de par3metros oceanogr3ficos y metereol3gicos en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf	64
5.6 Objetivo Espec3fico 6	68
An3lisis de patrones clim3ticos de gran escala y su relaci3n con FANs en fiordos y canales del sur de Chile de las regiones de Los Lagos y Ays3n	68
Abundancia del micro-fitoplancton y <i>Alexandrium catenella</i> en relaci3n con los 3ndices clim3tico-oceanogr3ficos en la regi3n de Magallanes, Chile: periodo 1997-2017	70
Correlaciones de anomal3as estandarizadas de 3ndices clim3ticos de macroescala y las variables biol3gico-ambientales de la regi3n de Magallanes	71
Cobertura geogr3fica de dinoflagelados productores de toxinas lipof3licas y paralizante durante los 3ltimos 20 a3os en el ecosistema de fiordos y canales sub-ant3rticos	72
Contenido y perfil de toxinas en poblaciones naturales de <i>Alexandrium catenella</i> en canales del sur de Chile	74
Registro de dinoflagelados de los g3neros <i>Karenias</i> , <i>Azadinium</i> y <i>Amphidoma</i> en la regi3n de Magallanes	76
Respuesta a variaciones en salinidad y potencia citot3xica de <i>Pseudochatonella verruculosa</i> aislada desde el seno de Reloncav3	77
Identificaci3n molecular de los dinoflagelados <i>Alexandrium catenella</i> y <i>Alexandrium ostenfeldii</i>	82
Quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos de Los Lagos, Ays3n y Magallanes	83
5.7 Objetivo Espec3fico 7	85
Sistema de distribuci3n de la informaci3n	85
Boletines T3cnicos	86
Acciones de difusi3n, capacitaci3n y educaci3n	87
5.8 Objetivo Espec3fico 8	88
6. CONCLUSIONES	89
7. REFERENCIAS BIBLIOGR3FICAS	95



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 4.4.1. Estaciones para la recolecci3n de muestras de nutrientes en la regi3n de Los Lagos.

Figura 4.4.2. Estaciones para la recolecci3n de muestras de nutrientes en la regi3n de Ays3n.

Figura 4.4.3. Estaciones para la recolecci3n de muestras de nutrientes en la regi3n de Magallanes.

Figura 4.5.1. a) Dominios modelo atmosf3rico WRF con resoluci3n espacial de 25km, 5km y 1km para la Grilla 1, 2 y 3 respectivamente. b) Modelo topogr3fico de los fiordos Puyuhuapi y canal Jacaf, puntos de color negro indican observaciones realizadas.

Figura 4.5.2: a) Grilla desestructurada horizontal del modelo hidrodinámico y b) discretizaci3n vertical del modelo hidrodinámico que combina coordenadas sigma y rectangulares.

Figura 4.5.3. Tasas de crecimiento modelada a) Watras y b) modificada.

Figura 4.5.4a Esquema conceptual del modelo biogeoquímico.

Figura 4.5.4b. Dominio y batimetría del modelo hidrodinámico.

Figura 4.5.5. Diseño experimental factorial cruzado utilizado para obtenci3n de tasas de crecimiento de la especie *A. catenella*. Se aprecian las 45 diferentes condiciones experimentales que surgen de la combinaci3n de 3 temperaturas (12,15,17 °C), 3 intensidades de Luz (50, 100, 150 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 3 salinidades (15, 25, 35 psu) y 3 concentraciones de nutrientes (2,2 - 4,4 - 8,8 M).

Figura 4.5.6. Batimetría del área de estudio.

Figura 4.5.7. Área de estudio y ubicaci3n de estaciones Oceanográficas.

Figura 4.5.8. Izquierda: Ubicaci3n geogr3fica de anclajes en canal Jacaf y Puyuhuapi. Derecha: Esquema de anclajes; mare3grafo, sensores de temperatura, salinidad, oxígeno.

Figura 4.6.1. Áreas de estudio y subdivisiones en las regiones de Los Lagos y Ays3n.

Figura 4.6.2. Áreas de estudio: Norte, Centro y Sur con un número de 23, 16 and 7 sitios de muestreo, respectivamente, en la regi3n de Magallanes.

Figura 4.6.3. Área de estudio y modelo esquemático de circulaci3n horizontal por capas (adaptado de Silva et al., 1998): A) Superficie del agua estuarina EW (0-30m); B) Agua Subantártica Intermedia.



Figura 5.1.1. Distribución de Veneno Paralizante de los Mariscos (VPM) detectada mediante el bioensayo ratón, en la macrozona sur-austral de Chile, para el periodo marzo 2018 y febrero 2019 (Etapa XII).

Figura 5.1.2. Distribución de toxinas lipofílicas detectada mediante el bioensayo ratón, en la macrozona sur-austral de Chile, para el periodo marzo 2018 y febrero 2019 (Etapa XII).

Figura 5.1.3. Distribución de Veneno Amnésico de los Mariscos (VAM) detectada mediante el bioensayo ratón, en la macrozona sur-austral de Chile, para el periodo marzo 2018 y febrero 2019 (Etapa XII).

Figura 5.2.1. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii* para el periodo comprendido entre marzo a septiembre del 2018, correspondiente a los cruceros 1 al 3.

Figura 5.2.2. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii* para el periodo comprendido entre marzo a septiembre del 2018, correspondiente a los cruceros 4 al 7.

Figura 5.2.3. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii* para el periodo comprendido entre marzo a septiembre del 2018, correspondiente a los cruceros 8 al 11.

Figura 5.2.4. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuta* y *Dinophysis acuminata* entre marzo y mayo del 2018, correspondiente a los cruceros 1, 2 y 3.

Figura 5.2.5. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuta* y *Dinophysis acuminata* entre junio y octubre del 2018, correspondiente a los cruceros 4, 5, 6 y 7.

Figura 5.2.6. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuta* y *Dinophysis acuminata* entre noviembre y diciembre del 2018, enero y febrero del 2019, correspondiente a los cruceros 8, 9, 10 y 11.

Figura 5.2.7. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Pseudo-nitzschia cf australis* y *Pseudo-nitzschia cf pseudodelicatissima* entre marzo y mayo del 2018, correspondiente a los cruceros 1, 2 y 3.



Figura 5.2.8. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Pseudo-nitzschia cf australis* y *Pseudo-nitzschia cf pseudodelicatissima* entre junio y octubre del 2018, correspondiente a los cruceros 4, 5, 6 y 7.

Figura 5.2.9. Valores de abundancia relativa (AR) observada para *Pseudo-nitzschia cf australis* y *Pseudo-nitzschia cf pseudodelicatissima* entre noviembre y diciembre del 2018, enero y febrero del 2019, correspondiente a los cruceros 8, 9, 10 y 11.

Figura 5.3.1 Ordenamiento multidimensional de las 220 estaciones de estudio para el promedio del fitoplancton cuantitativo (cel L⁻¹) en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019 para las tres regiones de estudio.

Figura 5.3.2. Ordenamiento multidimensional de las estaciones de estudio ubicadas en la región de los Lagos para el promedio del fitoplancton cuantitativo (cel L⁻¹) en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.3. Distribución y abundancia de las especies dominantes para las estaciones de la región de los Lagos en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.4. Clúster para la distribución y abundancia de las especies dominantes para las estaciones de la región de los Lagos en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.5. Ordenamiento multidimensional de las estaciones de estudio ubicadas en la región de Aysén para el promedio del fitoplancton cuantitativo (cel L⁻¹) en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.6. Distribución y abundancia de las especies dominantes para las estaciones de la región de Aysén en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.7. Clúster para la distribución y abundancia de las especies dominantes para las estaciones de la región de Aysén en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.8. Ordenamiento multidimensional de las estaciones de estudio ubicadas en la región de Magallanes para el promedio del fitoplancton cuantitativo (cel L⁻¹) en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.9. Distribución y abundancia de las especies dominantes para las estaciones de la región de Magallanes el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.

Figura 5.3.10. Clúster para la distribución y abundancia de las especies dominantes para las estaciones de la región de Magallanes en el periodo entre marzo de 2018 y febrero de 2019.



Figura 5.4.1. Concentraciones de nitrato (μM) en el estrato de 0-10m, entre marzo 2017 a febrero 2019 para las tres regiones monitoreadas.

Figura 5.4.2. Concentraciones de nitrato (μM) en el estrato de 10-20m, entre marzo 2017 a febrero 2019 para las tres regiones monitoreadas.

Figura 5.4.3. Concentraciones de fosfato (μM) en el estrato de 0-10m, entre marzo 2017 a febrero 2019 para las tres regiones monitoreadas.

Figura 5.4.4. Concentraciones de fosfato (μM) en el estrato de 10-20m, entre marzo 2017 a febrero 2019 para las tres regiones monitoreadas.

Figura 5.4.5. Concentraciones de silicato (μM) en el estrato de 0-10m, entre marzo 2017 a febrero 2019 para las tres regiones monitoreadas.

Figura 5.4.6. Concentraciones de silicato (μM) en el estrato de 10-20m, entre marzo 2017 a febrero 2019 para las tres regiones monitoreadas.

Figura 5.5.1. a) Rosas de viento observada y b) del modelo WRF. Series de tiempo modeladas y observadas de las componentes zonal (c), meridional (d) y magnitud del viento (e) al interior del fiordo Puyuhuapi.

Figura 5.5.2. Series de tiempo filtradas (coseno Lanczos) con periodo de corte de 40 h. de salinidad (a) y temperatura (c) observado (negro) y modelado (gris) a 1 m. de profundidad. Perfil temporal vertical modelado para salinidad (b) y temperatura (d) hasta 120 m. de profundidad en un punto ubicado en boya oceanográfica *Copas Sur-Austral* al norte del fiordo Puyuhuapi.

Figura. 5.5.3. (a-d) Perfiles de temperatura y salinidad observados (negro) y modelados (rojo) en periodo de verano e invierno para a Estaci3n 1 (fiordo Puyuhuapi sur). (e-h) ídem para estaci3n 5 (fiordo Puyuhuapi norte). (i-l) ídem para estaci3n 9 (Canal Jacaf).

Figura 5.5.4. (a) Esfuerzo del viento meridional basado en Modelo WRF. (b) Corriente meridional medida por el ADCP y (c) corriente meridional modelada, en la zona del umbral del canal Jacaf. Los datos fueron filtrados usando un coseno de Lanczos con periodo de corte de 40 horas.

Figura 5.5.5. Concentraci3n de *A. catenella* para las estaciones ubicadas en Puyuhuapi Jacaf (a) observado y (b) modelada.



Figura 5.5.6. Concentración superficial modelada de *A. catenella* para (a) julio, (b) agosto, (c) septiembre y (d) octubre del 2015.

Figura 5.5.7. Distribución a lo largo de la transecta ubicada en la boca del Guafo de (a) oxígeno disuelto modelado, (b) oxígeno disuelto observado, (c) nitrato modelado y (d) nitrato observado para el mes de agosto.

Figura 5.5.8. Distribución a lo largo de la transecta ubicada en la boca del Guafo de (a) oxígeno disuelto modelado, (b) oxígeno disuelto observado, (c) nitrato modelado y (d) nitrato observado para el mes de noviembre.

Figura 5.5.9. Tasas de crecimiento específico para la cepa AC-CU utilizando un diseño experimental factorial cruzado. Los resultados obtenidos se presentan en gráficos en el mismo orden que aparecen en el diseño experimental.

Figura 5.5.10. Frecuencia porcentual acumulada de *A. catenella* para abundancia relativa superior a 4.

Figura 5.5.11. Ubicación de los datos disponibles de las campañas de IFOP oceanografía en la región de los Lagos, a) mareógrafos, b) CTD y c) sensores, estaciones meteorológicas y ADCP anclado.

Figura 5.5.12. Ubicación de los datos disponibles de las campañas de IFOP oceanografía en la región de Aysén, a) mareógrafos, b) CTD y c) sensores, estaciones meteorológicas y ADCP anclado.

Figura 5.5.13. Propuesta de dominio para el modelo de Quellón (en verde).

Figura 5.5.14. Propuesta de dominio para el modelo de Aysén (en verde).

Figura 5.5.15. Rosa de viento de estación Meteorológica Melinka (convención meteorológica). A lo largo del total del muestreo (noviembre del 2018 a marzo del 2019).

Figura 5.5.16. Distribución vertical a lo largo del transecto de los canales Puyuhuapi y Jacaf de a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y b) salinidad.

Figura 5.5.17. Distribución vertical a lo largo del transecto de los canales Puyuhuapi y Jacaf de a) oxígeno disuelto (mL L^{-1}) y b) fluorescencia (mg m^{-3}).

Figura 5.5.18. Distribución vertical de Brunt-Vaisala (ciclo h^{-1}) a lo largo de los canales Puyuhuapi y Jacaf.



Figura 5.5.19. Distribución vertical a lo largo del transecto de Moraleda de a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y b) salinidad.

Figura 5.5.20. Distribución vertical a lo largo del transecto de Moraleda de a) oxígeno disuelto (mL L^{-1}) y b) fluorescencia (mg m^{-3}).

Figura 5.5.21. Distribución vertical de Brunt-Vaisala (ciclo h^{-1}) a lo largo de Moraleda.

Figura 5.5.22. Series de tiempo, anclaje canal Jacaf a 10 m (línea roja indica promedio). a) nivel del mar, b) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), c) salinidad.

Figura 5.5.23. Series de tiempo, anclaje canal Jacaf a 15 m (línea roja indica promedio). a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), b) salinidad.

Figura 5.5.24. Series de tiempo, anclaje canal Jacaf (20m, 30m, 50m, 80m, 100m y 150m). a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), b) salinidad.

Figura 5.5.25. Series de tiempo, anclaje canal Jacaf a 150 m (línea roja indica promedio). a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), b) oxígeno (mL L^{-1}).

Figura 5.5.26. Series de tiempo, anclaje canal Puyuhuapi a 10 m (línea roja indica promedio). a) nivel del mar, b) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), c) salinidad.

Figura 5.5.27. Series de tiempo, anclaje canal Jacaf a 15 m (línea roja indica promedio). a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$); b) salinidad.

Figura 5.5.28. Series de tiempo, anclaje canal Puyuhuapi (20 m, 30 m, 50 m, 80 m, 100 m y 150 m). a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), b) salinidad

Figura 5.5.29. Series de tiempo, anclaje canal Puyuhuapi a 150 m (línea roja indica promedio). a) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), b) oxígeno (mL^{-1}).

Figura 5.5.30. Perfiles verticales de los nutrientes (izquierda), variables oceanográficas (centro) y distribución de las especies nocivas (derecha) durante el crucero de octubre de 2018.

Figura 5.5.31. Perfiles verticales de los nutrientes (izquierda), variables oceanográficas (centro) y distribución de las especies nocivas (derecha) durante el crucero de noviembre de 2018.

Figura 5.5.32. Perfiles verticales de los nutrientes (izquierda), variables oceanográficas (centro) y distribución de las especies nocivas (derecha) durante el crucero de diciembre de 2018.



Figura 5.5.33. Perfiles verticales de los nutrientes (izquierda), variables oceanográficas (centro) y distribuci3n de las especies nocivas (derecha) durante el crucero de enero de 2019.

Figura 5.5.34. Perfiles verticales de los nutrientes (izquierda), variables oceanográficas (centro) y distribuci3n de las especies nocivas (derecha) durante el crucero de febrero de 2019.

Figura 5.6.1. Anomalías estandarizadas de la variable biol3gica (*Dinophysis acuminata*) y su correlaci3n con índice de evento a gran escala (en este caso la combinaci3n del MEI y ODP) para las zonas de Los Lagos Norte y Aysén Sur.

Figura 5.6.2. Anomalías estandarizadas de la variable biol3gica (*Alexandrium catenella*) y su correlaci3n con índice de evento a gran escala (en este caso la combinaci3n del MEI y ODP) para las zonas de Los Lagos Sur y Aysén Norte.

Figura 5.6.3. Anomalía estandarizada anual del MEI y presi3n atmosférica de la ciudad de Punta Arenas (PresAt PA).

Figura 5.6.4. Anomalía estandarizada anual de las abundancias relativas de *A. catenella* por área geográfica norte, centro y sur (AR_N, C, S respectivamente), y presi3n atmosférica de la ciudad de Punta Arenas.

Figura 5.6.5. Anomalía estandarizada trimestral de la AR de *A. catenella* y anomalía anual del ndice AAO para el periodo de estudio.

Figura 5.6.6. Toxicidad promedio trimestral de VPM para las estaciones representativas de cada área geográfica para el periodo de estudio. La línea transversal negra indica el límite de toxicidad (80 μ g STX eq.100 g-1) en los moluscos para su consumo humano.

Figura 5.6.7. Niveles de AR de *D. acuta* durante 22 años de monitoreo: 1996-2017, y porcentajes de cobertura geográfico durante el periodo de estudio.

Figura 5.6.8. Niveles de AR durante 12 años de monitoreo: 2006-2017, y porcentajes de presencia anual durante el periodo de estudio, para las microalgas *D. acuminata* (superior) y *P. reticulatum* (inferior).

Figura 5.6.9. Porcentajes de abundancia relativa (AR) por nivel (curvas de colores y área anaranjada pálido, eje izq.), y porcentaje de presencia anual (columnas azules, eje der.) de las microalgas productoras de toxinas lipofílicas (TL): *D. acuta*, *D. acuminata* y *P. reticulatum*, y de la especie productora de toxina paralizante, *A. catenella*, durante los respectivos periodos de estudio.



Figura 5.6.10. Porcentajes de cobertura geográfica (curvas grises, eje vertical derecho) de: *D. acuta*, *D. acuminata*, *P. reticulatum* y *A. catenella*. También se indica el promedio porcentual de cobertura (prom= %), de tres de las microalgas: *D. acuminata*, *P. reticulatum* y *A. catenella*, para los últimos 8, 5 y 8 años, respectivamente.

Figura 5.6.11. Composición de toxinas paralizantes (%fmol) en las estaciones de canal Puyuhuapi (1-2-3-4-5), Jacaf (7-8-9-10) y Moraleda (11-12-13 y 14).

Figura 5.6.12. Contenido de toxinas paralizantes (fmol cel⁻¹) en las estaciones de canal Puyuhuapi (A22, A20, A19, SM y A16N1), Jacaf (A17, A15, A14) y Moraleda (E2, E3, E4, E5 y E6).

Figura 5.6.13. Contenido de toxina (fmol cell⁻¹) en poblaciones naturales de *A. catenella* de los canales Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda como una función de la temperatura y salinidad.

Figura 5.6.14. Especies de dinoflagelados de los géneros *Karenia*, *Azadinium* y *Amphidoma* registrados en el sur de Chile. (a) *Karenia* cf. *mikimotoi*. (b) *Karenia* cf. *selliformis*. (c) *Karenia* *bicuneiformis*. (d) *Karenia* cf. *papilionacea*. (e) *Karenia* cf. *brevis*. (f) *Karenia* cf. *brevisulcata*. (g) *Karenia* sp. (h) *Azadinium* cf. *spinosum*, (i) *Azadinium* cf. *poporum*. (j) *Azadinium* cf. *obesum*. (k) *Azadinium* sp. (l) *Amphidoma* cf. *parvula*. Asterisco: núcleo. Cabeza de flecha: espina antapical. Flecha: pirenoide. Barras de escala: a–g, 10 µm; h–l, 5 µm.

Figura 5.6.15. Filogenia de máxima probabilidad derivada de secuencias nucleares parciales de LSU (región D1-D2). Los valores de soporte se muestran en cada rama: bootstrap aLRT / ML (arriba) y probabilidad Bayesiana posterior (abajo).

Figura 5.6.16. Microscopía electrónica de barrido (SEM). A) Célula ovoide con un flagelo largo dirigido hacia adelante (flecha) en cultivo a 35 psu, B) célula esférica con mucocistos en la periferia de la célula (flecha) en cultivo a 25 psu y C) grupo de células interconectadas por delgados filamentos mucilaginosos (flechas).

Figura 5.6.17 Curvas temporales de crecimiento celular de cultivos de *P. verruculosa* en 5 tratamientos de salinidad. Los símbolos representan la media y las barras de error la desviación estándar de los recuentos de células por triplicado.

Figura 5.6.18. Citotoxicidad de *Pseudochattonella*, dependiente de la concentración de células en tratamientos con sobrenadante y células lisadas (a 25 y 35 psu y a 1 y 5 días de cultivo), medida en base a la respuesta de viabilidad celular de la línea RTgill-W1. Los símbolos representan la media y las barras de error la desviación estándar de la viabilidad celular de las mediciones por cuadruplicado.



Figura 5.6.19. A) Curva de PCR obtenida en base a diluciones seriadas en diferentes cepas del g3nero *Alexandrium*. B) Curva de melting unimodal realizada a partir de transformaci3n logar3tmica de los valores de la figura A. C) Curva est3ndar para determinar eficiencia de los marcadores dise1ados.

Figura 5.6.20. Expresi3n relativa del gen 28S en dos cepas de *A. catenella* y *A. ostenfeldii*.

Figura 5.6.21. Comparaci3n de la abundancia relativa obtenida por microscopia y lo obtenido por qPCR en *A. catenella* y *A. ostenfeldii*, durante el mes de febrero 2019.

Figura 5.6.22. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos superficiales de las regiones de Los Lagos, Ays3n, y Magallanes. (a) *Alexandrium catenella*. (b) *Alexandrium ostenfeldii*. (c) *Protoceratium reticulatum*. (d) cf. *Lingulodinium polyedrum*. (e) *Gonyaulax* cf. *spinifera*. (f) *Gonyaulax* cf. *ramosus*. (g) *Gonyaulax* cf. *mirabilis*. (h) *Pentaparsodinium dalei*. (i) *Pentaparsodinium tyrrhenicum* (j) *Scrippsiella trochoidea*. (k) *Scrippsiella patagonica*. (l) *Scrippsiella* sp. (m) *Dissodinium pseudolunula*. (n) *Archaeoperidinium minutum*. (11) *Echinidinium aculeatum*. (o) *Protoperidinium americanum*. (p) *Protoperidinium avellana*. (q) *Protoperidinium claudicans*. (r) *Protoperidinium conicoides*. (s) *Protoperidinium conicum*. Escala: 10 µm.

Figura 5.6.23. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos superficiales de las regiones de Los Lagos, Ays3n, y Magallanes. (t) *Protoperidinium nudum*. (u) *Protoperidinium denticulatum*. (v) *Protoperidinium excentricum*. (w) *Protoperidinium leonis*. (x) *Protoperidinium pentagonum*. (y) *Protoperidinium subinermis*. (z) *Protoperidinium tricingulatum*. (aa) *Protoperidinium* spp. (bb) *Protoperidinium* sp. 2. (cc) *Protoperidinium* sp. 4. (dd) *Protoperidinium* sp. 5. (ee) *Protoperidinium* sp. 6. (ff) *Protoperidinium* sp. 8. (gg) *Polykrikos schwartzii*. (hh) *Polykrikos kofoidii*. (ii) *Polykrikos* sp. 1. (jj) *Polykrikos* sp. 2. (kk) *Preperidinium meunieri*. (ll) *Diplopsalopsis ovata*. (mm) cf. *Enciculifera carinata*. Escala 10 µm.

Figura 5.6.24. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos superficiales de las regiones de Los Lagos, Ays3n, y Magallanes. (nn) *Niea acanthocysta*. (111) No identificado 1. (oo) No identificado 2. (pp) No identificado 4. (qq) No identificado 6. (rr) No identificado 8. (ss) No identificado 9. (tt) No identificado 10. (uu) No identificado 12. (vv y ww) No identificado 13. (xx) No identificado 14. (yy) No identificado 15. (zz) No identificado 19. (aaa) No identificado 20. (bbb) No identificado 23. (ccc) No identificado 24. (ddd) No identificado 26. (eee) No identificado 27. (fff) No identificado 28. Escala 10 µm.

Figura 5.6.25. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos superficiales de las regiones de Los Lagos, Ays3n, y Magallanes. (ggg) No identificado 30. (hhh) No identificado 31. (iii) No identificado 33. (jjj) No identificado 34. Escala 10 µm.



INDICE DE TABLAS ^{XE} "ÍNDICE DE TA

Tabla 4.5.1. Parámetros utilizados en el modelo biológico.

Tabla 5.5.1. Medidas de rendimiento del modelo WRF y MIKE 3

Tabla 5.5.2. Tasas de crecimiento específico para cada uno de los tratamientos utilizados en los diferentes experimentos según el diseño experimental. Este set de datos muestra las tasas obtenidas con una temperatura constante (15°C). Tasas de crecimiento más altas se muestran en color verde.

Tabla 5.5.3. Tasas de crecimiento específico para cada uno de los tratamientos utilizados en los diferentes experimentos según el diseño experimental. Este set de datos muestra las tasas obtenidas con luz constante (100 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Tasas de crecimiento más altas se muestran en color verde.

Tabla 5.6.1. Diferentes índices ordenados por grado de correlaci3n con la variable biológica para las zonas de Los Lagos Norte y Aysén Sur. (n.s= no significativo)

Tabla 5.6.2. Variables físicas ordenadas por grado de correlaci3n con índice combinado MEI y ODP para las zonas de Los Lagos Norte y Aysén Sur. (n.s= no significativo)

Tabla 5.6.3. Diferentes índices ordenados por grado de correlaci3n con la variable biológica para las zonas de Los Lagos Sur y Aysén Norte. (n.s= no significativo)

Tabla 5.6.4. Variables físicas ordenadas por grado de correlaci3n con índice combinado MEI y ODP para las zonas de Los Lagos Sur y Aysén Norte. (n.s= no significativo)

Tabla 5.6.5. Matriz de correlaciones significativas ($p < 0.05$, en rojo) de Spearman de las anomalías anuales estandarizadas de la abundancia relativa (AR) de *A. catenella* y VPM para el área geográfica norte, y de AR de *A. catenella* por sitio de muestreo dentro de la misma área.

Tabla 5.6.6a. Grado de correlaci3n y significancia de las anomalías estandarizadas anuales de AR de *A. catenella* y VPM por área geográfica versus las respectivas anomalías de las estaciones que las representan.

Tabla 5.6.6b. Grado de correlaci3n y significancia de la anomalía estandarizada anual de VPM para las estaciones representativas de cada área geográfica versus un número acotado a de sitios dentro del área geográfica norte.

Tabla 5.6.7. Grado de correlaci3n y significancia de la anomalía anual estandarizada del MEI, presi3n atmosférica en Punta Arenas (PresAt PA) y la densidad celular fitoplanctónica.



Tabla 5.6.8. Grado de correlación y significancia de la anomalía anual estandarizada de la presión atmosférica en Punta Arenas (PresAt PA) y la respectiva anomalía de AR de *A. catenella*. Ésta última por área geográfica y por sitio de muestreo.

Tabla 5.6.9. Grado de correlación y significancia entre las anomalías anuales estandarizadas de la AAO y la presión atmosférica en Punta Arenas (PresAt PA), y con la anomalía estandarizada anual y trimestral de AR de *A. catenella* de sitios dentro de las tres áreas geográficas.

Tabla 6.10 Grado de correlación y significancia entre las anomalías anuales estandarizadas de AR de *A. catenella* por sitio representativo de cada área geográfica, y de VPM en los mismos sitios.



ANEXOS

ANEXO 1. SUB-PROGRAMA DE MONITOREO REGULAR: estaciones de monitoreo entre marzo 2018 y febrero de 2019 en las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes, incluyendo c3digo, top3nimo, sectorizaci3n, transvector, instituci3n requirente y coordenadas geogr3ficas.

ANEXO 2. SUB-PROGRAMA DE VIGILANCIA Y FISCALIZACI3N: estaciones de monitoreo entre marzo 2018 y febrero de 2019 en las regiones de Los Lagos y Ays3n, incluyendo c3digo, top3nimo, sectorizaci3n, transvector, instituci3n requirente y coordenadas geogr3ficas.

ANEXO 3. SUB-PROGRAMA DE RAÚL MARÍN BALMACEDA: estaciones de monitoreo entre marzo 2018 y febrero 2019 en un sector de la regi3n de Ays3n, incluyendo c3digo, top3nimo, sectorizaci3n, transvector, instituci3n requirente y coordenadas geogr3ficas.

ANEXO 4. Índice informe final manejo y monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Etapa XII 2018 – 2019.

ANEXO 5. Resúmenes asistencia congresos.

ANEXO 6. Conferencias.

ANEXO 7. Publicaciones.

ANEXO 8. Cursos y talleres de capacitaci3n de actualizaci3n especializada.

ANEXO 9. Taller de finalizaci3n.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA



RESUMEN EJECUTIVO

Este documento corresponde al texto del informe final del estudio Programa Manejo y Monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes XII Etapa, 2018-19. El estudio es financiado, en su mayor parte, por el Ministerio de Economía, Fomento y Turismo (MINECON) cubriendo todas las actividades, muestreos, análisis e interpretación de los resultados; el análisis de toxinas en mariscos es solventado por el Ministerio de Salud (MINSAL) y realizado en los laboratorios de las Secretarías Regionales de Salud ubicados en Puerto Montt, Aysén y Punta Arenas. El trabajo de esta etapa fue iniciado en marzo de 2018 y se extendió hasta febrero de 2019. Al igual que en la etapa previa, el trabajo se abordó por subprogramas según las áreas geográficas, sus complejidades y los aspectos que allí se desea cautelar, adaptando en consecuencia, las frecuencias de muestreo y distribución de las estaciones según las características particulares de cada sector. Bajo este criterio el estudio estuvo estructurado en 3 subprogramas: a) Monitoreo Regular (baja frecuencia, muestreo cuasi mensual); b) Monitoreo de Vigilancia y Fiscalización; y c) Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda (los dos últimos de alta frecuencia; muestreo cuasi cada 10 días).

El objetivo general es disponer de un sistema oportuno de muestreo, detección y cuantificación periódico del Veneno Paralizante de los Mariscos (VPM), Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM) y Veneno Amnésico de los Mariscos (VAM), además de las especies de microalgas nocivas fuentes primarias de las toxinas (*Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, respectivamente) adecuado a la realidad geográfica de las regiones de Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (en adelante Aysén) y Magallanes y Antártica Chilena (en adelante Magallanes).

El estudio incluye ocho objetivos específicos, los primeros cuatro orientados al monitoreo propiamente tal, que incluyen actividades para seguir las variaciones de la toxicidad en mariscos de las toxinas paralizante, lipofílicas y amnésica (objetivo 1), de la distribución y abundancia de los taxones nocivos (objetivo 2), el fitoplancton total, tanto cualitativo como cuantitativo (objetivo 3), además de recolectar información hidrográfica y meteorológica en cada uno de los puntos en donde se recolecta información biológica, incorporando estimaciones de la concentración de nutrientes (objetivo 4); se ha continuado con la modelación de la distribución y abundancia de *A. catenella* en el fiordo Puyuhuapi y canal Yacaf, región de Aysén, junto con el desarrollo de estudios en condiciones de laboratorio ligados a este compromiso (objetivo 5); asimismo se ha continuado con el análisis de los datos generados por el programa desde mayo de 2006, profundizando los resultados logrados desde 2014 (objetivo 6) y que se entregan en los informes finales de las etapas VIII, IX, X y XI; se han mantenido los criterios de distribución de la información incorporados en la etapa previa, usando distintas herramientas tecnológicas, (objetivo 7); finalmente, al igual que en etapas previas se realizará un seminario de difusión de resultados, abarcando el lapso entre mayo de 2006 y febrero de 2019; sin perjuicio de la presentación de resultados en conferencias, seminarios, simposio, y otras instancias de oportunidad en que ha sido necesario mostrar las tendencias y resultados ligados principalmente a *Alexandrium catenella* y toxina paralizante (objetivo 8).



Una sntesis de las conclusiones alcanzadas es la siguiente. En el perodo marzo 2018 - febrero de 2019 correspondiente a la XII etapa de este estudio, se detectaron floraciones de *Alexandrium* y *Dinophysis*, en distintos sectores del rea de estudio, destacando las floraciones de *A. catenella* que afectaron la regin de Aysn y el sureste de Chilo y reas norte (Provincia de ltima Esperanza) y sur (canal Beagle) de la regin de Magallanes.

Las floraciones de *Dinophysis*, tanto de *D. acuta* como *D. acuminata*, se observaron en distintos sectores del rea de estudio, principalmente en las regiones de Aysn y de Los Lagos, en forma persistente y prolongada. Estas floraciones deben ser abordadas con mayor profundidad, dado que han aumentado en intensidad y por sus implicancias en la salud pblica.

En ambas floraciones (*Alexandrium* y *Dinophysis*) las condiciones climtico oceanogrficas son relevantes para entender la distribuci3n y abundancia de estas microalgas, pero con efectos distintos en cada caso.

El programa permiti3 entregar a la autoridad informaci3n pertinente, oportuna y confiable sobre los niveles de abundancia relativa de los taxones nocivos para la adopci3n de las medidas que protejan la salud pblica y minimicen los impactos sobre las actividades productivas. No hubo casos fatales asociados a toxina paralizante y la autoridad pudo proteger apropiadamente la salud pblica. El grado de madurez y comprensi3n de la informaci3n que genera el programa, junto con las capacidades de modelaci3n de dispersi3n de partculas, han mejorado sustancialmente los pron3sticos para el extremo sureste de la isla de Chilo. Las condiciones meteorol3gicas registradas entre mediados de diciembre de 2018 y febrero de 2019, determinaron que la floraci3n de *A. catenella* iniciada en el norte Aysn no se proyectar con la intensidad observada en la etapa previa, ello particularmente como consecuencia de la intensidad y direcci3n de los vientos del sur. Estos vientos transportan masas de agua desde el extremo norte de Aysn hacia el sureste de Chilo, entre otros sectores, y determinan la distribuci3n y abundancia de esta microalga en ese sector, y consecuente de los niveles de toxina paralizante en los mariscos.

Los progresos logrados han permitido mejorar la comprensi3n en condiciones de laboratorio entre temperatura, salinidad y tasas de crecimiento de *A. catenella*, adem s de las condiciones de borde del modelo, de forma que la distribuci3n y abundancia de estas microalgas est siendo modelada con un mejor ajuste respecto de lo observado en el ambiente.

Durante el desarrollo del objetivo 6 se han realizado distintos anlisis de la informaci3n recopilada por el programa, la cual se inici3 durante el 2014 abarcando en una primera etapa los antecedentes disponibles desde mayo 2006. Estos anlisis se han continuado realizando en etapa sucesivas del programa haciendo nfasis en aspectos que permitan identificar las variables ambientales que determinan cambios en la ocurrencia temporal y en la distribuci3n espacial de las Floraciones de Algas Nocivas. Durante esta Etapa XII del programa, el anlisis de la base de datos disponible se ha centrado en el estudio del efecto de la variabilidad de las condiciones atmofricas-oceanogrficas sobre las



distintas especies de microalgas nocivas contempladas en el programa. Adem3s, de manera similar a lo reportado en etapas anteriores del programa, en este objetivo 6 se han incluido estudios generados

de manera excepcional durante el periodo contemplado en esta Etapa XII, los cu3les no ha sido informados previamente y que resultan del acercamiento del programa hacia aspectos considerados como brechas de investigaci3n y uso de herramientas anal3ticas nuevas, con el objetivo de ampliar el conocimiento de las FANs su ocurrencia y din3mica de desarrollo y el impacto asociado a la salud p3blica y las actividades econ3micas. Entre estos t3picos se encuentran: toxinas paralizantes en poblaciones naturales, especies nocivas emergentes, t3cnicas moleculares para la detecci3n de dinoflagelados y quistes de resistencia de dinoflagelados.

La difusi3n de la informaci3n sobre la abundancia y distribuci3n de los taxones nocivos contin3a orientada a distintos p3blicos objetivo, usando distintas herramientas tecnol3gicas (reportes peri3dicos, p3gina web, Twitter, Facebook, App m3vil, entre otros). Se han mantenido los mensajes oportunos, confiables y sint3ticos, para que la autoridad pueda adoptar las medidas pertinentes.



1. INTRODUCCI3N

Este documento constituye el informe final del estudio Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes XII etapa 2018-19, correspondiente al per3odo marzo 2018 – febrero 2019.

Las secuelas derivadas de las intensas floraciones ocasionadas por *Pseudochattonella verruculosa* y *Alexandrium catenella* durante el verano y oto3o de 2016, respectivamente, asociadas a una notoria perturbaci3n sobre el entorno social y econ3mico de la regi3n de Los Lagos, unidas las frecuentes y recurrentes proliferaciones de microalgas nocivas y brotes t3xicos de mariscos en el sistema estuarino de fiordos y canales, han tornado imprescindible implementar un sistema de detecci3n confiable y oportuno, de las microalgas nocivas y de las toxinas involucradas, adem3s de las condiciones ambientales asociadas, a fin de contar con una alerta temprana para usuarios relacionados con la extracci3n de mariscos filtradores y carn3voros, como tambi3n para mejillones de cultivo. Desde luego ello tiene relevancia para la salud p3blica, pero tambi3n tiene importancia para minimizar los impactos sobre actividades productivas como la pesca, la acuicultura y el turismo.

Tambi3n es necesario disponer de informaci3n acerca de la distribuci3n y abundancia de *Alexandrium catenella* dado que la legislaci3n y normativa vigente, permite definirla como especie plaga FAN (Floraci3n Algal Nociva), y por lo mismo, en determinados sectores, se debe disponer de informaci3n para administrar la navegaci3n de embarcaciones “wellboats”, dada la potencialidad de trasladar la forma vegetativa y/o los quistes de esta microalga desde sectores calificados como 3rea plaga hacia aquellos que no han sido declarados como tal.

El Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes, es una actividad de car3cter permanente, desarrollada a trav3s de etapas anuales. Entre marzo de 2018 y febrero de 2019 se ha ejecutado la duod3cima etapa 2018-19 de este programa, en cuanto a la recolecci3n de informaci3n de terreno. Al igual que en etapas previas, desde 2013, se contempla un muestreo diferenciado por subprogramas seg3n las necesidades en las distintas 3reas geogr3ficas consideradas, sus complejidades y los aspectos que all3 se desea cautelar, adaptando en consecuencia, las frecuencias de muestreo y distribuci3n de las estaciones de acuerdo a las caracter3sticas particulares de cada sector. Bajo este criterio el estudio est3 estructurado en 3 subprogramas: a) Monitoreo Regular (baja frecuencia; muestreo cuasi mensual); b) Monitoreo de Vigilancia y Fiscalizaci3n; y c) Monitoreo de Ra3l Mar3n Balmaceda (los dos 3ltimos de alta frecuencia; muestreo cuasi cada 10 d3as). El detalle y caracter3sticas de cada subprograma se entregan en la metodolog3a por objetivos.

El estudio incluye ocho objetivos espec3ficos, los primeros cuatro orientados al monitoreo propiamente tal, que incluyen actividades para seguir las variaciones de la toxicidad en mariscos de las toxinas paralizante, lipof3licas y amn3sica (objetivo 1), de la distribuci3n y abundancia de los taxones nocivos (objetivo 2), el fitoplancton total, tanto cualitativo como cuantitativo (objetivo 3), adem3s de recolectar



información hidrográfica y meteorológica en cada uno de los puntos de muestreo, manteniendo las estimaciones de la concentración de nutrientes, esta última actividad incorporada durante la etapa previa (undécima etapa del programa correspondiente al período 2017-18 (objetivo 4); así mismo se ha continuado con la modelación de la distribución y abundancia de *A. catenella* en el fiordo Puyuhuapi y canal Yacaf, región de Aysén, junto con el desarrollo de estudios en condiciones de terreno y laboratorio ligados a este compromiso (objetivo 5); también se ha continuado con el análisis de los datos generados por el programa desde mayo de 2006, profundizando los resultados logrados desde 2014 (objetivo 6) y que fueron entregados en los informes finales de las etapas VIII, IX, X y XI; en esta ocasión se ha continuado con la distribución de la información según las adecuaciones incorporadas en la etapa previa, usando distintas herramientas tecnológicas, orientadas a grupos selectos (objetivo 7); finalmente, al igual que en etapas previas se ha realizado un seminario de difusión de resultados, abarcando el lapso entre mayo de 2006 y febrero de 2019, además de presentar contribuciones en conferencias, seminarios, simposios, y otras actividades de oportunidad que requerían mostrar el conocimiento logrado con este programa (objetivo 8).

El programa es financiado en su mayor parte por el Ministerio de Economía, Fomento y Turismo y en menor grado por el Ministerio de Salud, en lo que se refiere al análisis de toxinas en mariscos.

Las tablas y figuras están numeradas en forma correlativa dentro de cada objetivo específico, pero precedidas por el número del objetivo a que están vinculadas. En los anexos la numeración es sólo correlativa y no está vinculada a ningún objetivo.



2. ANTECEDENTES

En las últimas cinco décadas se ha apreciado, a escala mundial, un incremento aparente en la frecuencia, cobertura geográfica e intensidad de los eventos conocidos como mareas rojas y que técnicamente son denominadas Floraciones de Algas Nocivas (FAN) (sensu [UNESCO, 1996](#)). Chile no ha estado ajeno a la presencia de estos eventos, particularmente en su extremo sur austral. Aunque no ha sido confirmado, pareciera que para la macro región que abarca desde Los Lagos hasta Magallanes, este incremento no sería aparente y que correspondería a un cambio real.

Las FAN corresponden a una proliferación, en ambientes acuáticos, de algas microscópicas que pueden causar la muerte masiva de peces y una gran variedad de otros organismos, contaminar los mariscos con toxinas, y alterar los ecosistemas, de manera que los seres humanos las perciban como dañinas o nocivas ([GEOHAB, 2001](#)). Los impactos que ocasionan sobre el hombre y sus actividades, incluyen intoxicaciones por consumo de mariscos, que pueden ser fatales; mortandades masivas de organismos marinos en el ambiente natural y en sistemas de crianza o engorda; alteraciones de los hábitats costeros, y por ende, perturbaciones en los sistemas social y económico.

Los problemas crecientes que imponen las FAN y sus efectos son abordados tanto a través de acciones operacionales como desarrollando investigación científica. Las primeras fortalecen la prevención, para proteger la salud pública y disminuir los trastornos en los sectores productivos o los efectos ambientales por la ampliación de la distribución geográfica de microalgas nocivas, en tanto que las segundas permiten mejorar el nivel de conocimiento y comprensión de estos fenómenos. Entre las acciones operacionales se incluyen los monitoreos, y otras actividades orientadas a fortalecer la prevención según la acepción de [Guzmán et al. \(2004\)](#) (i.e. capacitación, difusión y educación), que apuntan a entregar información, capacitar y educar a grupos selectos y a la comunidad en general, en torno a los aspectos claves de estos fenómenos naturales y orientados hacia el desarrollo de habilidades específicas según la profesión, oficio o función de las personas y al desarrollo de conductas responsables de la comunidad en general, en función de las medidas que debe adoptar la autoridad en áreas que son afectadas por floraciones y/o brotes tóxicos.

En general la inexistencia de antídotos para las toxinas que producen algunas microalgas, la falta de tecnologías para controlar las floraciones en el ambiente o para eliminar las toxinas de los mariscos, las perturbaciones que provocan en los sistemas social y económico, y la carencia de modelos que permitan predecir la aparición, duración y lugar de ocurrencia de estas floraciones, obligan a fortalecer la prevención, cuya fuente de información primordial son los programas de monitoreo.

Un programa de monitoreo es una actividad sistemática en el espacio y tiempo, que permite disponer de información sobre las tendencias naturales de determinadas variables que pueden ser utilizadas como indicadores de cambio ambiental y eventualmente indicadores de riesgo para la salud pública y las actividades productivas ([Guzmán et al., 2010](#)), con la finalidad de que la autoridad pueda adoptar medidas para proteger la salud pública y/o cautelar aspectos ambientales, como lo es el minimizar los riesgos de trasladar la forma vegetativa o los quistes de *A. catenella* desde un área declarada plaga FAN a otra que no esté considerada como tal.



La macro zona sur austral del país, que incluye las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, durante varios años ha sido afectada por floraciones de algas nocivas asociadas a toxinas marinas afectando la salud pública y las actividades económicas y sociales, particularmente aquellas ligadas a la pesca, acuicultura y al turismo. La primavera y verano de 2018-2019 aunque mostraron floraciones de *A. catenella* en distintos sectores del área de estudio, en esta oportunidad no se apreciaron efectos marcados como los registrado en 2016 y 2018, particularmente en el sureste de Chiloé como consecuencia de la intensidad de la floración en el norte de la región de Aysén, y las condiciones meteorológicas (e.g. intensidad y dirección del viento).

En Chile, la preocupación en torno a las floraciones de algas nocivas ha estado centrada en proteger la salud pública, y consecuentemente minimizar los impactos sobre las actividades productivas. Además, para los temas de pesca y acuicultura, el Reglamento sobre Plagas Hidrobiológicas (Decreto Supremo N° 345 de 2005 y sus modificaciones D.S. N° 239 de 2010, del Ministerio de Economía), que entró en vigencia el 17 de diciembre de 2007, le otorga a la autoridad atribuciones para adoptar medidas frente a determinados eventos que son calificados como plagas. Se entiende por plaga hidrobiológica o plaga, la población de una especie hidrobiológica que por su abundancia o densidad puede causar efectos negativos en la salud humana, en las especies hidrobiológicas o en el medio, originando detrimento de las actividades pesqueras extractivas o de la acuicultura y pérdidas económicas. Consecuentemente la autoridad pesquera debe regular las actividades y medidas destinadas a prevenir, controlar y propender a la erradicación de organismos que constituyen o pueden llegar a constituir plagas hidrobiológicas.

La entrada en vigencia del reglamento sobre Plagas Hidrobiológicas y sus modificaciones, entrega a la autoridad la responsabilidad de velar sobre la oportuna detección de plagas hidrobiológicas para aislar su presencia y evitar su propagación, entre otras medidas. Es en este sentido y con motivo de vigilar el área FAN declarada en el 2009 bajo R. Ext. N° 177 y modificada en el 2012 por R. Ex. N° 2826, que desde el año 2006 en el país se mantiene un Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Éste es ejecutado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), en coordinación con la Secretaría Regional Ministerial de Salud de las tres regiones administrativas que considera este estudio, para el análisis de mariscos evaluando la presencia y cantidad de tres complejos de toxinas marinas. Este monitoreo provee de información para la toma de decisiones de la autoridad, además de alimentar una base de datos sobre la dinámica de distribución y abundancia de las principales especies de microalgas nocivas que se encuentran en las regiones citadas. Por este motivo es necesario contar con un registro continuo de las variables monitoreadas a fin de analizar desde una perspectiva temporal estos eventos.

La finalidad de un programa de monitoreo, es disponer de antecedentes confiables y oportunos para adoptar medidas precautorias a la salud pública y reducir los trastornos sobre las actividades productivas (i.e. pesca, acuicultura, turismo). En este contexto, el concepto prevención está ligado al desarrollo de capacidades para proteger a las personas y sus actividades sociales y económicas, lo cual está orientado a prevenir los efectos provocados por las FAN ([Guzmán et al., 2004](#)), a diferencia de la acepción que califica prevención como las acciones para impedir que ocurran las FANs o que impacten directamente algún recurso (sensu [Boesch et al., 1997](#); [Anderson, 2004](#)). En este contexto la distribución de la información producida por el programa, es un aspecto central, y por lo mismo continúa siendo orientada a distintos públicos objetivo, siendo el primero el presentado por la autoridad competente.



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Disponer de un sistema oportuno de muestreo, detecci3n y cuantificaci3n peri3dico del Veneno Paralizante de los Mariscos (VPM), Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM) y Veneno Amnésico de los Mariscos (VAM), adem3s de las especies de microalgas nocivas fuentes primarias de las toxinas (*Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, respectivamente) adecuado a la realidad geogr3fica de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

3.2 Objetivos específcos

1. Vigilar las variaciones espacio temporales del VPM, VDM y VAM en transvectores selectos en una red de estaciones que cubra representativamente los sectores que comprenden los subprogramas de Monitoreo Regular, Monitoreo de Vigilancia y Fiscalizaci3n, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.
2. Conocer la abundancia y distribuci3n espacio temporal de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, en la seálada red de estaciones.
3. Conocer la abundancia y distribuci3n espacio temporal de especies que componen el fitoplancton en la red de estaciones de estudio.
4. Recolectar informaci3n oceanogr3fica (e.g. temperatura, salinidad, nutrientes) y meteorol3gica (e.g. temperatura, nubosidad, viento) en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.
5. Registrar variables oceanogr3ficas y biol3gicas en zonas representativas del área de estudio para continuar la modelaci3n físi-co-biol3gico de *Alexandrium catenella*.
6. Continuar con el análisis interpretativo iniciado en 2014 de la base de datos disponible desde mayo de 2006, segregando por complejo t3xico y fitoplancton nocivo asociado y en correspondencia con las variables bi3ticas y abi3ticas disponibles.
7. Mantener la distribuci3n de la informaci3n generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.
8. Realizar un taller de presentaci3n de resultados (mayo 2006 – febrero 2019), con énfasis en los resultados obtenidos durante la etapa XII, sin perjuicio de comprometer la presentaci3n de trabajos indistintamente en seminarios, congresos, conferencias, simposios y/o publicaci3n de artículos científicos.



4. METODOLOGÍA

La metodología se presenta por objetivo específico y la base de datos que sustenta los objetivos 1-4 son informados con el formato requerido por la Subsecretaría de Pesca.

4.1 Metodología Objetivo Específico 1

1. Vigilar las variaciones espacio temporales del VPM, VDM Y VAM en transvectores selectos en una red de estaciones que cubra representativamente los sectores que comprenden los subprogramas de Monitoreo Regular, Monitoreo de Vigilancia y Fiscalización, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.

Estaciones y frecuencia de muestreo.

El área de trabajo comprende las regiones de Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (en adelante Aysén) y Magallanes y Antártica Chilena (en adelante Magallanes). Las estaciones de muestreo integran una red fija y están dispuestas de manera representativa y en relación a las particularidades de cada sector geográfico. El programa está estructurado en 3 subprogramas coordinados bajo una misma administración.

El área ha sido dividida en 9 sectores, usando distintos puertos de zarpe. Estos sectores son los siguientes: Chiloé norte, Chiloé centro, Chiloé sur, Aysén norte, Aysén sur, Tortel, Magallanes norte, Magallanes centro y Magallanes sur. Solo Chiloé norte, tendrá varios lugares de zarpe, ya que los sectores restantes, en cada caso, sólo tendrán un puerto de zarpe. En el sector de Chiloé norte los zarpes serán desde los puntos siguientes, indicando entre paréntesis la cantidad de localidades a muestrear: Cochamó (2 puntos), Yates (4 puntos), Tentelhue (1 punto), caleta La Arena (2 puntos), Metri (1 punto), bahía Ilque (1 punto), Caicaén (2 puntos), Chayahué (1 punto), Ancud (1 punto) y Hueihue (1 punto). En la etapa previa se han agregado dos sitios de muestreo en el sector de Hualaihué: Hornopirén y Pichicolo, con lugar de zarpe de las localidades con el mismo nombre en cada caso, respectivamente. En los demás lugares, Chiloé centro, zarpe desde Dalcahue; Chiloé sur, zarpe desde Quellón; Aysén norte, zarpe desde Puerto Chacabuco; Aysén sur, zarpe desde Puerto Cisnes; Tortel, zarpe desde Tortel; Magallanes norte, zarpe desde Puerto Natales; Magallanes centro, zarpe desde Punta Arenas y Magallanes sur, zarpe desde Puerto Williams.

Sub-Programa Monitoreo Regular.

Tiene como objetivo el monitoreo de 205 estaciones ubicadas desde la región de Los Lagos hasta la región de Magallanes. Corresponden a todas las estaciones del programa ubicadas en sectores de extracción de recursos hidrobiológicos. La frecuencia de muestreo fue mensual con un receso invernal de 45 días aproximadamente (meses de julio-agosto). Se realizaron 11 cruceros en todas las estaciones, empezando en marzo de 2018 y finalizando en febrero de 2019. En cada una de las estaciones se realizaron las siguientes actividades: toma de muestras de agua para análisis cualitativo y cuantitativo de fitoplancton nocivo y total, toma de muestras de mariscos para detectar o estimar



concentraciones de toxinas marinas en transvectores selectos y toma de datos oceanográficos y meteorológicos. La metodología para el análisis de fitoplancton, detección de toxinas, toma de datos oceanográficos y meteorológicos y recolección de muestras de sedimentos para quistes de dinoflagelados, se detalla en los objetivos específicos 2, 3 y 4, y corresponde a la adoptada por el Programa en etapas previas. Se debe destacar que la recolección de sedimentos, a diferencia de las actividades antes mencionadas, se realizó en una oportunidad en cada una de las tres regiones durante todo el período de estudio. Las estaciones muestreadas en este subprograma se presentan en el Anexo 1.

Sub-Programa Vigilancia y Fiscalización.

Este subprograma considera una frecuencia de monitoreo más alta en 17 estaciones ubicadas en los sectores de Quellón, el área sur y sur-este de la Isla de Chiloé, un transecto en el canal Moraleda y varios sitios en el sector de Melinka, a fin de obtener un flujo mayor de información ligada al transporte de especies hidrobiológicas en sectores con presencia de especie plaga: *A. catenella*. El detalle de las estaciones y su ubicación se encuentra en el Anexo 2. La frecuencia de muestreo para este grupo de estaciones fue cada 10 días aproximadamente, con un receso invernal de 30 días, completando un total de 31 cruceros. El inicio de las campañas fue en marzo de 2018 hasta febrero de 2019, sin embargo, las condiciones climáticas oceanográficas registradas en desde septiembre de 2017, determinaron que el inicio de esta etapa en este sector se retrasará para el mes de mayo de 2018, logrando ajustar la frecuencia de muestreo, en septiembre de 2018. Se realizaron las siguientes actividades en cada una de las estaciones: toma de muestras para análisis cualitativo y cuantitativo de fitoplancton nocivo y total, toma de muestras de mariscos selectos con una frecuencia mensual cuando la topografía del lugar y la disponibilidad del recurso lo permitieron y toma de datos oceanográficos y meteorológicos. Al igual que para el Subprograma Regular, la metodología para el análisis de fitoplancton, detección de toxinas, toma de datos oceanográficos y meteorológicos y recolección de muestras de sedimentos para quistes de dinoflagelados durante un crucero, se detalla en los objetivos específicos 2, 3 y 4, y corresponde a la adoptada por el Programa en etapas previas.

Sub-Programa Raúl Marín Balmaceda.

Este subprograma tiene por finalidad generar información asociada a la abundancia de especies fitoplanctónicas nocivas, además de la información señalada en el párrafo anterior y que permita principalmente cautelar la calificación de *A. catenella* en este sector, desde la perspectiva del reglamento de plagas. Para ello se ha intensificado la vigilancia, incrementando la frecuencia de muestreo en 6 estaciones ubicadas en los sectores de Canal, Brazo del Pillán y frente a la desembocadura del río Palena. El detalle sobre la ubicación de éstas se encuentra en el Anexo 3. El muestreo tuvo una frecuencia aproximada cada 10 días con un receso invernal de 30 días, completando un total de 31 cruceros contados entre marzo de 2017 y febrero de 2018; al igual que lo señalado para el subprograma de Vigilancia y Fiscalización, por motivos climático oceanográficos el muestreo de la etapa previa finalizó a mediados de abril, por lo que el muestreo correspondiente a esta etapa se inició en el mes de mayo de 2018, y logrando ajustar la frecuencia del mismo a inicios de septiembre de 2018. En cada una de las estaciones se realizaron las siguientes actividades: toma



de muestras para an3lisis cualitativo y cuantitativo de fitoplancton nocivo y total, toma de muestras de mariscos selectos con una frecuencia mensual cuando la topograf3a del lugar y la disponibilidad de recursos lo permitieron, recolecci3n de muestras de agua para estimaci3n de concentraci3n de nutrientes, toma de datos oceanogr3ficos y meteorol3gicos y recolecci3n de muestras de sedimentos para quistes de dinoflagelados durante un crucero. Al igual que para el an3lisis del Subprograma Regular, la metodolog3a para el an3lisis de fitoplancton, detecci3n de toxinas, toma de datos oceanogr3ficos y meteorol3gicos se detalla en los objetivos espec3ficos 2, 3 y 4 y corresponde a la adoptada por el Programa en etapas previas.

Muestreo de transvectores y detecci3n de toxinas.

El muestreo se orient3 hacia especies centinelas en cada regi3n (e.g. cholga, chorito, almeja, entre otras), sin perjuicio de la recolecci3n de otros recursos seg3n las necesidades, desde el punto de vista de la salud p3blica, u otras particularidades de cada regi3n.

La recolecci3n de estos recursos por regi3n estuvo dada seg3n lo descrito en el cuadro siguiente, y se condiciona adem3s a si la ubicaci3n de la estaci3n de monitoreo permite la extracci3n, ya sea por la profundidad existente en el lugar de ubicaci3n de sitios de muestreo o por la disponibilidad de recurso. En esta etapa de manera excepcional se muestrearon un par de puntos en el seno Ventisquero durante enero de 2019, canal Beagle, 3rea sur de Magallanes, a solicitud de la Direcci3n Zonal de la Subsecretar3a de Pesca y Acuicultura, con la finalidad de evaluar el estado de condici3n del osti3n del sur, en cuanto a la concentraci3n de toxina paralizante en sus tejidos. El punto de muestreo del programa se encuentra en la boca de este fiordo, en tanto que los visitados en esta oportunidad se ubican en la parte media del mismo.

Regi3n	Especies transvector
Los Lagos	Cholga (<i>Aulacomya atra</i>) Chorito (<i>Mytilus chilensis</i>) Almeja (<i>Venus antiqua</i>)
Ays3n	Cholga (<i>Aulacomya atra</i>) Chorito (<i>Mytilus chilensis</i>) Almeja (<i>Venus antiqua</i>) Culengue (<i>Gari solida</i>) Choro zapato (<i>Choromytilus choro</i>)
Magallanes	Cholga (<i>Aulacomya atra</i>) Chorito (<i>Mytilus chilensis</i>) Osti3n del sur (<i>Chlamys vitrea</i>)* Huepo (<i>Ensis macha</i>)

* Para las 6 estaciones de pre-cosecha del osti3n del sur y durante un periodo acotado.

Se recolectaron espec3menes de talla comercial mediante buceo semi-aut3nomo. Cada muestra fue de alrededor 2 kilogramos de marisco con concha. La extracci3n de transvectores depende de la disponibilidad de estos recursos en cada sector. Para las muestras destinadas a la detecci3n de TPM,



se recolectaron muestras con r3plica, la cual se extrajo en un mismo sector con 500 m de distancia. S3lo en la regi3n de Ays3n, se recolectaron muestras de otros mariscos (transvector secundario).

Luego de la recolecci3n, las muestras fueron etiquetadas y almacenadas en bolsas pl3sticas para conservarlas en recipientes con hielo o refrigeradas y trasportadas a bordo de embarcaciones, las que, una vez llegadas a puerto, se congelaron a -20° C hasta el momento del an3lisis que fue realizado en los laboratorios de la SEREMI de Salud de cada regi3n.

Las muestras de transvectores para determinar la toxicidad por TPM, TDM y TAM fueron entregadas a los laboratorios de las Secretar3as Regionales Ministeriales de Salud de Los Lagos, Ays3n y Magallanes, seg3n coordinaciones efectuadas a trav3s del Ministerio de Salud (Subsecretar3a de Salud P3blica). Se mantuvo un registro de las entregas y recepciones mediante un formulario establecido para tal efecto. La metodolog3a utilizada para la detecci3n de TPM fue el bioensayo de rat3n seg3n la norma [AOAC. 959.08 \(1990\)](#) con determinaci3n del Factor de Correcci3n (FC) y uso de saxitoxina est3ndar. Se estim3 peri3dicamente el FC para el peri3do de estudio y para ratones CF-1 (Instituto de Salud P3blica) entre 18-21 g. Los resultados son entregados en microgramos equivalentes de saxitoxina por 100 gramos de carne de molusco ($\mu\text{g eq. STX } 100 \text{ g}^{-1}$).

Para la toxina diarreica, se aplic3 la t3cnica modificada de [Yasumoto et al. \(1984\)](#), y los resultados presentados en t3rminos cualitativos seg3n los tiempos de muerte de los ratones en un lapso de 24 horas, entendiendo por resultado positivo la muerte, de al menos dos de tres ratones, en un lapso inferior a 24 horas. La toxina amn3sica fue estimada mediante cromatograf3a l3quida de alta eficacia seg3n la metodolog3a descrita por [Quilliam et al. \(1995\)](#). Los resultados se presentan en microgramos de 3cido domoico por gramos de carne de marisco ($\mu\text{g g}^{-1}$).

Toda la informaci3n referente a resultados de toxicidad en mariscos, se entrega tabulada, con las unidades para resultados cuantitativos, o seg3n corresponda para resultados cualitativos (en el caso de TDM). Los resultados se entregan por estaci3n y crucero, distribuidos por regi3n administrativa.

4.2 Metodolog3a Objetivos Espec3ficos 2 y 3

2. Conocer la abundancia y distribuci3n temporal de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, en la red de estaciones de monitoreo antes citada.
3. Conocer la distribuci3n y abundancia espacio temporal del fitoplancton total en la red de estaciones del estudio.



Estaciones y frecuencia de muestreo.

Las estaciones y frecuencias por subprograma est1n detalladas en el primer punto del Objetivo 1 y corresponden a las mismas que se muestrearon para el cumplimiento de estos objetivos.

Muestreo de fitoplancton.

El muestreo de fitoplancton se realiz3 en todas las estaciones de cada uno de los subprogramas para las tres regiones donde se ejecuta el estudio (en total 228 sitios de muestreo), cuya distribuci3n general se entrega en el siguiente cuadro.

Subprograma/ Regi3n	Monitoreo Regular (SMR)	Vigilancia y Fiscalizaci3n (SVF)	Ra3l Mar3n Balmaceda (SRMB)	Total
LOS LAGOS	46	11	0	57
AYS3N	75	6	6	87
MAGALLANES	84	0	0	84
Total	205	17	6	228

La regi3n de Ays3n presenta el n3mero m1s alto de sitios de muestreo, luego la regi3n de Magallanes (incluyendo 5 sitios que s3lo son muestreados en una oportunidad vinculados con el recurso osti3n del sur, adem1s de los 2 sitios incorporados durante esta etapa indicados previamente) y finalmente la regi3n de Los Lagos. Dada la frecuencia de muestreo en cada sector, es en la regi3n de Ays3n aquella en la que se recolecta la mayor cantidad de muestras de fitoplancton (40,3%) seguida por la regi3n de Magallanes (31,1%) y finalmente la regi3n de Los Lagos (28,5%). Es importante precisar que por un tema log3stico en la regi3n de Los Lagos se incluyen los an1lisis de los 6 sitios de SRMB y de los 6 sitios del SVF ubicados en Melinka, ambos en Ays3n norte, pero que son muestreados desde Quell3n y operativamente quedan incluidos en el sector de Chilo3 sur y analizadas tambi3n en la regi3n de Los Lagos. Consecuentemente la proporci3n de muestras analizadas en esta regi3n asciende a un 41,1%, seguida por la regi3n de Magallanes, 31,1%, y finalmente la regi3n de Ays3n con 27,8%.

Los muestreos y an1lisis de fitoplancton cualitativo y cuantitativo se realizaron aplicando la siguiente metodolog3a:

1. **Muestreo cualitativo:** el fitoplancton fue recolectado mediante arrastres verticales desde 20 m de profundidad (como m1ximo) hasta la superficie, o seg3n profundidad del lugar, usando una red de trama de malla de 23 μ m. Los arrastres fueron realizados en triplicado (3 r3plicas), en dos puntos de cada estaci3n de muestreo, separados por unos 300-500 m. Las muestras fueron fijadas con formalina neutralizada al 2-3% y de cada punto se conform3 una sola muestra (i.e. una muestra integrada de seis arrastres).
2. **Muestreo cuantitativo:** para este an1lisis se realizaron muestreos de la columna de agua entre los 20 m de profundidad y superficie, utilizando una manguera de 2,5 cm de di1metro. La



columna de agua fue fraccionada en dos: superficie a 10 m y de 10 a 20 m de profundidad (se recolect3 una muestra por estrato). El agua contenida en cada uno de los estratos obtenidos de la manguera es traspasada a un recipiente donde es homogenizada para luego tomar una muestra en un frasco de 125 mL las cuales son fijadas con Lugol para su posterior analisis en laboratorio.

Análisis de fitoplancton.

1. Análisis cualitativo: se utilizaron microscopios 3pticos de campo luminoso, a 100x y 400x, dotados con condensador de contraste de fase y equipo de epifluorescencia. Se estim3 la abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, para lo cual se contabiliz3 el n3mero de c3lulas de cada tax3n en una al3cuota de 0,1 ml tomada desde una muestra sedimentada por un periodo de 24 horas, bajo un cubre-objeto de 18 x 18 mm (3 r3plicas). El criterio para diluir las muestras de abundancia relativa se determina: 1) cuando la abundancia de especies nocivas es alta y hace su recuento m3s lento (Ej. especies del g3nero *Pseudo-nitzschia* con sobre 500 c3l/campo a 100x y, 2) cuando la abundancia fitoplanctonica total de la muestra es muy alta haciendo que las especies se vean superpuestas entre si, dificultando la observaci3n.

Preparaci3n de la diluci3n:

Para realizar la diluci3n se toma una al3cuota de la muestra decantada y se deposita en un tubo eppendorf, posteriormente se agregan m3s al3cuotas del sobrenadante de la misma muestra. Si la diluci3n es a 1/2 se toman 0,2mL de muestra decanta y 0,2mL de sobrenadante, si la diluci3n es a 1/4 se toma 0,1mL de muestra decantada y 0,3mL de sobrenadante. Una vez realizada la diluci3n se homogeniza la muestra en el tubo eppendorf y se deposita en el portaobjeto para su posterior recuento y clasificaci3n seg3n niveles entregados en el cuadro a continuaci3n:

ESCALA		<i>D. acuta</i> (1)	<i>A. catenella</i> (2)	<i>Pseudo-nitzschia</i> spp. (3)
AUSENTE	0	0	0	0
RARO	1	1 - 5	1 - 2	1 - 10
ESCASO	2	6 - 15	3 - 10	11 - 50
REGULAR	3	16 - 35	11 - 42	51 - 210
ABUNDANTE	4	36 - 75	43 - 170	211 - 850
MUY ABUNDANTE	5	76 - 155	171 - 682	851 - 3410
EXTREMADAMENTE ABUNDANTE	6	156 - 315	683 - 2730	3411 - 13650
HIPER ABUNDANTE	7	316 - 635	2731 - 10922	13651 - 54610
ULTRA ABUNDANTE	8	636 - 1275	10923 - 43690	54611 - 218450
MEGA ABUNDANTE	9	1276 - 2555	43691 - 174762	---

2. Análisis cuantitativo: las muestras fueron contabilizadas a nivel espec3fico en c3maras de sedimentaci3n, cuyo volumen fue seleccionado de acuerdo a la concentraci3n de la muestra.



La c3mara m3s utilizada fue la de 10 mL, pero tambi3n se utilizaron c3maras de 50 mL dependiendo de la densidad en cada muestra. Para el recuento celular se aplic3 la t3cnica de [Uterm3hl \(1958\)](#), en microscopios invertidos dotados con contraste de fase.

Configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total durante el periodo marzo 2018 a febrero 2019.

Con el objetivo de evaluar los resultados obtenidos durante esta etapa del programa de monitoreo, en cuanto a la existencia de configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total (c3l L⁻¹), se realizaron an3lisis de estadística no param3trica con los datos obtenidos entre marzo de 2018 y febrero de 2019 utilizando como variable el promedio de la densidad del fitoplancton durante el periodo de estudio.

Para realizar este an3lisis, los datos de abundancia celular fueron estructurados de tal forma que se dispuso de promedio anual de los datos para cada estaci3n de monitoreo, los cuales fueron estimados con datos disponibles desde marzo 2018 hasta febrero de 2019. Para la ordenaci3n y clasificaci3n de los sitios de muestreo, se aplicaron an3lisis de conglomerados (“cluster analysis”) usando como medida de distancia el índice de similitud de Bray y Curtis, reduciendo la matriz mediante el m3todo del grupo promedio no ponderado y representando los resultados en un dendrograma. La informaci3n analizada corresponde a los datos de biomasa fitoplanct3nica a nivel específico para los primeros 10 metros de la columna de agua. Para el an3lisis de la abundancia fitoplanct3nica se consider3 como criterio discriminador el aporte porcentual por tax3n incluido, de tal forma que se incluyeron todas las especies que anteriores a la aparici3n de la primera especie nociva (*Alexandrium ostenfeldii*). Finalmente result3 una matriz de 204 especies de micro-fitoplancton, que dan cuenta de >99% de la biomasa acumulada, por 220 sitios de muestreo.

Los an3lisis se realizaron con el programa PRIMER (“Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research”). Los conglomerados representados en los dendrogramas significativamente diferentes, fueron identificados mediante el an3lisis SIMPROF (“SIMilarity PROFile” o perfiles de similaridad) ([Clarke & Gorley 2006](#)), el cual calcula rangos de los “perfiles de similaridad” entre muestras y determina la significancia estadística de cada conglomerado individual del dendrograma usando t3cnicas de permutaciones. El nivel de significancia empleado fue de 1%. En los dendrogramas la significancia en la conformaci3n y la uni3n de los conglomerados se muestra usando una coloraci3n distinta, esto es, rojo para grupos homog3neos y negro para grupos significativamente distintos. El an3lisis SIMPER permiti3 conocer el aporte porcentual con que contribuyen los constituyentes de cada conglomerado definido.



4.4. Metodologí3 Objetivo Específico 4

4. Recolectar informaci3n oceanográfica (e.g. temperatura, salinidad, nutrientes) y meteorológica (e.g. temperatura, nubosidad, viento) en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.

Recolecci3n de datos oceanográficos.

En cada sitio de muestreo, se realizaron mediciones de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, clorofila (fluorescencia) y densidad de la columna de agua mediante CTDO hasta una profundidad máxima de 50 m o hasta la profundidad que permitía la topografía del lugar.

Recolecci3n de informaci3n meteorológica.

Solo para la regi3n de Magallanes las variables climáticas se registraron mediante estaciones meteorológicas de registro automático en tanto que para las otras regiones la informaci3n fue tomada de la Direcci3n de Aeronáutica Civil. En la regi3n de Los Lagos, sector Puerto Montt en 41°26' 06"S y 73°05' 51"W; regi3n de Aysén, sector Puerto Aysén en: 45° 23' 45,9"S y 72°39'50,0"W y en la regi3n de Magallanes, Puerto Zenteno a 15 m.s.n.m. en 52°47'S y 70°47'W. Para esta última la estaci3n se compone de un registrador de datos electr3nico ("datalogger") y sus respectivos sensores de temperatura y humedad relativa del aire, radiaci3n solar, velocidad y direcci3n del viento y precipitaci3n. En todas las estaciones de muestreo, se registraron además las condiciones atmosféricas al momento de efectuar el muestreo. Se incluye la medici3n de temperatura del aire y rapidez y direcci3n del viento mediante termo anem3metro digital, a resguardo de lluvia y radiaci3n solar para efectuar la toma de temperatura, y registrando 5 valores minuto a minuto para calcular un promedio de la velocidad del viento y el uso de un compás de navegaci3n para registrar su direcci3n; la presi3n atmosférica se midi3 mediante un GPS; Nubosidad, mediante la divisi3n de la bóveda celeste en octavos. La posici3n de cada estaci3n fue referenciada geográficamente utilizando equipos GPS bajo el Datum WGS84.

Toma de muestras y análisis nutrientes.

Para estimar la concentraci3n de nutrientes, se recolectaron muestras de agua en una red de estaciones selectas del á3rea de estudio (nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos) (Figs. 4.4.1; 4.4.2; 4.4.3). Las muestras para estimar la concentraci3n de nutrientes en la columna de agua fueron recolectadas de un conjunto de sitios de muestreo distribuidas en las regiones administrativas consideradas en este estudio (en total 98 sitios, Los Lagos 36 sitios, Aysén 32 sitios y Magallanes 28 sitios; véase Anexos 1, 2 y 3). En cada sitio de muestreo, se recolectaron dos muestras, una correspondiente al estrato superficie – 10 m de profundidad y otra, referida al estrato 10 - 20 m de profundidad. Las muestras fueron recolectadas de la misma forma que se utiliza para la toma de muestras para el fitoplancton cuantitativo (muestreo integrado por estrato mediante manguera). Las muestras fueron conservadas en botellas asépticas de polietileno de alta densidad y congeladas hasta su análisis a -20°C. Los nutrientes considerados son nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos. El análisis se hizo mediante multianalizador de nutrientes y las técnicas aplicadas corresponden a USEPA Y APHA/AWWA/WEF, para nitritos, nitratos, fosfatos y silicatos ([EPA 600/R93/100](#)).



4.5 Metodologí3 Objetivo Específico 5

5. Registrar variables oceanográficas y biológicas en zonas representativas del área de estudio para continuar la modelación físico-biológico de *Alexandrium catenella*.

A partir de esta Etapa XII del proyecto, los objetivos que se habían informado por separado en las etapas previas, referentes a la recolección de parámetros oceanográficos en sectores de interés dentro del área de estudio y la modelación de la distribución de la abundancia de *A. catenella*, se unen en un solo objetivo, donde los datos de los parámetros oceanográficos, hidrografía (temperatura, salinidad, densidad, fluorescencia y oxígeno), sensores de temperatura, salinidad, densidad, perfiles de luz etc.) son utilizados para continuar desarrollando el modelo hidrodinámico, mientras que, los datos de tasas de crecimiento, distribución horizontal y vertical de *A. catenella*, son incorporados en el desarrollo de la modelación biológica. Finalmente, ambos modelos son acoplados en un modelo físico-biológico.

Durante esta etapa del proyecto se continuó con el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *A. catenella*. El desarrollo de la modelación en esta nueva etapa implicó, continuar con la resolución, a través de un modelo hidrodinámico, el patrón de corrientes en la zona de estudio, la cual está condicionado por forzantes como la batimetría, las mareas, temperatura y salinidad de la columna de agua, patrón de vientos, presión atmosférica y fuentes de agua dulce. Este modelo hidrodinámico fue acoplado al modelo biológico para conocer la distribución y abundancia de *A. catenella*, como función de su crecimiento frente a variable como la temperatura, salinidad, luz y nutrientes y su mortalidad o remoción desde la columna de agua, mediada por la predación (grazing), senescencia celular y sedimentación (enquistamiento).

En base a la información generada en la etapa previa (XI Etapa), donde se realizaron ejercicios de modelación de distribución y abundancia para *A. catenella* en la zona comprendida entre la boca del fiordo Puyuhuapi ($-44^{\circ}55'57''$; $-73^{\circ}19'28''$) y la cabeza del canal Jacaf ($-44^{\circ}27'29''$; $-72^{\circ}35'57''$); podemos señalar que existen aspectos tanto de la modelación hidrodinámica como de la modelación biológica que debemos abordar en esta nueva etapa de trabajo con la finalidad de mejorar los resultados obtenidos hasta el momento.

Modelación numérica.

La modelación biológica del área de estudio implicó la implementación de un modelo físico, el que involucró un modelo atmosférico conocido como Weather Research and Forecasting (WRF) y un modelo hidrodinámico local del tipo MIKE 3D FM. En cuanto al modelo biológico de *A. catenella*, éste fue implementado utilizando el módulo Ecolab de MIKE3. Por otra parte, para el modelo biogeoquímico se utilizó un modelo NPZD (nutrientes-fitoplancton-zooplancton-detritus) de ROMS-Agrif. Todos los modelos fueron realizados para el fiordo Puyuhuapi y el canal Jacaf. A continuación, se describen las características generales de los modelos.



Modelo Físico.

Modelo atmosférico regional (WRF).

Para el forzamiento atmosférico se utilizó el modelo WRF, logrando una reducción de escala de modelos globales. De esta manera, procesos atmosféricos locales son representados de mejor forma. Esto se realizó mediante dominios anidados, los cuales siguieron una relación de 1/5 para cada dominio de las grillas 2 y 3 respecto a la grilla 1 (Figs. 4.5.1 a,b). El primer dominio correspondió a la grilla 1 y comprendió un área entre $\sim 39^\circ\text{S}$ - 48°S y $\sim 70^\circ\text{W}$ - 84°W , con resolución espacial de 25km. El segundo dominio (grilla 2) tuvo una resolución horizontal de 5 Km y un área que abarca entre $\sim 43^\circ\text{S}$ - 46°S y $\sim 71^\circ\text{W}$ - 75°W . Finalmente, el tercer dominio correspondió a la grilla 3, conteniendo los canales Jacaf y Puyuhuapi y alcanzando 1 Km de resolución horizontal. La fuente de datos topográficos utilizada pertenece a la USGS incorporada en el modelo WRF, con ~ 1 Km de resolución horizontal para todos los dominios. Finalmente, el modelo se alimentó con datos iniciales y de frontera provenientes del modelo global de la atmósfera FNL, proporcionados por el National Center for Environmental Prediction (NCEP), con resolución horizontal de ~ 100 Km.

Modelo hidrodinámico MIKE 3D FM.

El modelo MIKE 3D FM considera la solución numérica de las ecuaciones tridimensionales incompresibles de Navier-Stokes utilizando el enfoque de Reynolds, los supuestos de Boussinesq y de presión hidrostática. Entonces, el modelo consiste en las ecuaciones de conservación de masa y de momentum, transporte de calor y de sal. Utiliza el método de volúmenes finitos centrados en cada celda como algoritmo de solución discreta de las ecuaciones indicadas (DHI, 2016). El dominio del modelo hidrodinámico constó de 9800 elementos en la horizontal y se extiende desde las bocas de ambos fiordos (Fig. 4.5.2a). La información batimétrica fue obtenida de las cartas náuticas del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA). El sector de menor resolución fue el más cercano al borde abierto norte (boca canal Jacaf) con un tamaño aproximado de 1000 m, mientras que en otros lugares tales como pasos restringidos o zonas someras la resolución alcanzó los 200 m. En la dimensión vertical, utiliza un esquema híbrido de 45 capas (Sigma y cuadrangular) que permiten mantener de manera adecuada la estratificación (Fig. 4.5.2b). Las condiciones de borde de nivel del mar estuvieron basadas en mediciones de 30 días de nivel del mar realizadas por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), en las bocas de ambos fiordos durante el año 2011, a estas series se le realizó un análisis armónico de mareas (Pawlowicz et al., 2002), mediante el cual, se determinaron sus constituyentes y fue posible realizar un pronóstico de éstas para el periodo de modelación. Para condiciones de borde de temperatura y salinidad fueron utilizadas observaciones provenientes de perfiles de CTD realizados por el programa CIMAR-Fiordos 7 (Calvete & Sobarzo 2011). Para la generación de condiciones de iniciales de temperatura y salinidad, se utilizó información derivada de campañas hidrográficas realizadas por IFOP en el año 2011, con estas se procedió a generar una interpolación horizontal y vertical para cubrir todo el dominio, con el objetivo de reducir el tiempo de estabilización del modelo.



La informaci3n de fuentes de agua dulce que ingresa al modelo fue otorgada por registros de caudales diarios del r3o Cisnes y del r3o Ventisquero, provenientes de la Direcci3n General de Aguas (DGA, www.dga.cl). Con el fin de considerar otras descargas de agua dulce que no cuentan con informaci3n, se utiliz3 una estimaci3n basada en el m3todo de proporci3n de 3reas ([Archfield & Vogel, 2010](#)). Este m3todo estima la descarga en una ubicaci3n sin observaciones (Q_{Sobs}), al multiplicar el caudal observado (Q_{obs}) o de referencia por la raz3n entre el 3rea de las cuencas sin observaci3n (A_{Sobs}) y de referencia (A_{obs}).

$$Q_{Sobs} = Q_{obs} * \frac{A_{Sobs}}{A_{obs}} \quad (1)$$

En este caso, el caudal de referencia corresponde al r3o Cisnes, mientras que las 3reas correspondientes a cada cuenca y los principales afluentes pertenecen a la informaci3n proveniente de la DGA.

Modelaci3n biol3gica.

El modelo *A. catenella* es un modelo biol3gico acoplado que contiene principalmente las parametrizaciones de crecimiento y mortalidad. Este modelo supone que no existen limitaciones de nutrientes y que los procesos de enquistamiento y exquistamiento (germinaci3n) son despreciables.

La mortalidad (m) es considerada en el modelo como la remoci3n de c3lulas debido a la predaci3n, y es una proporci3n de la concentraci3n de *A. catenella*.

La parametrizaci3n de la tasa de crecimiento (μ) utilizada es la forma sugerida por [Platt & Jassby \(1976\)](#) que incluye la irradiancia y que fue usada por [Langdon \(1988\)](#) en sus estudios del crecimiento del fitoplancton:

$$\mu(E, T, S) = (\mu_{max}(T, S) + \mu_0^r) \cdot \tanh\left(\frac{a_g \cdot E}{\mu_{max}(T, S) + \mu_0^r}\right) - \mu_0^r$$

Donde μ_{max} es la tasa de crecimiento m3xima (d^{-1}) para una determinada temperatura (T) y salinidad (S), μ_0^r es la tasa de respiraci3n basal (d^{-1}), E es el promedio de la irradiancia diaria ($W\ m^{-2}$) y a_g es la eficiencia de crecimiento ($d^{-1}\ W^{-1}\ m^{-2}$). Los valores de los par3metros utilizados en el modelo biol3gico se describen en la Tabla 4.5.1.

Mientras que, la dependencia de μ_{max} con la temperatura y la salinidad fue formulada de la siguiente forma:

$$\mu_{max}(T, S) = \mu(T_{op}, S_{op}) \cdot f(T) \cdot f(S)$$



Donde $\mu(T_{op}, S_{op})$ es la tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad. Las funciones $f(T)$ y $f(S)$ son ajustes polinomiales cúbicos normalizados para que sus resultados varíen entre 0 y 1.

Las ecuación de temperatura y salinidad (Fig. 4.5.3) reflejan que el máximo crecimiento es entre 16° y 20° y para salinidad entre 19 y 28, lo que no evidencia la realidad de *A. catenella* en el canal Puyuhuapi, donde a partir de datos observados del programa de Marea Roja, el máximo de concentración de *A. catenella* está asociado a temperaturas entre 11° y 15° y valores de salinidad entre 25 y 30. Por lo tanto se desplazó la ecuación de [Watras et al. \(1982\)](#) para que coincidieran los máximos con los datos observados en Puyuhuapi, estas ecuaciones se presentan a continuación;

$$f(T) = -0.0004T^3 + 0.0066T^2 + 0.04T + 0.19$$

$$f(S) = -0.0022S^2 + 0.125S - 0.765$$

El registro de datos de radiación solar diaria para el período de simulación, se obtuvieron de la estación meteorológica El Claro perteneciente a la red agrometeorológica del instituto de investigación agropecuaria (INIA) ubicada en Coyhaique. Las condiciones iniciales se construyeron a partir la interpolación de datos de concentración de *A. catenella* obtenidos por el Programa de Marea Roja de IFOP.

Modelación biogeoquímica.

La modelación biogeoquímica del área de estudio implicó la implementación de un modelo del tipo regional llamado NPZD (Fig. 4.5.4a) (Nitrato-Fitoplancton-Zooplancton-Detritus), el que utilizó las salidas del modelo hidrodinámico ROMS-Agrif. Para ello se implementó un modelo con una configuración del tipo climatológica, con el objetivo de reproducir condiciones generales de gran escala.

Se utilizó esta estrategia, debido a la falta de datos biogeoquímicos en la zona de estudio y con la finalidad de poder reproducir la distribución de las masas de agua descrita por [Silva et al \(1998\)](#) y la estacionalidad observada por [Pérez-Santos et al. \(2017\)](#). En este sentido, evaluaremos a lo largo de un año de simulación climatológica la distribución vertical de las masas de aguas de origen oceánico (agua subantártica y agua ecuatorial subsuperficial) que ingresan por la boca del Guafo debido a que esta zona es la principal entrada de masas de aguas oceánicas a las aguas interiores y que se encuentran presentes en los canales Puyuhuapi y Jacaf.

Para el modelo hidrodinámico se utilizó el modelo ROMS-Agrif de código abierto, el que utilizó una grilla de carácter regional, con un dominio que cubrió todo el mar interior de las regiones de Los Lagos y Aysén incluido el sector oceánico (Fig. 4.5.4b).

El dominio fue construido con datos batimétricos de GEBCO y las condiciones iniciales y de borde fueron construidas a partir de datos del modelo global Mercator, con condiciones de marea basadas



en TPX 07 y para los forzantes atmosféricos datos obtenidos de datos satelitales de COADS. Adem3s, se utilizaron como fuentes de agua dulces, datos de caudales obtenidos de la Direcci3n General de Aguas (DGA). El modelo biogeoquímico tiene 4 componentes basados en nitr3geno y fue desarrollado por [Fasham et al. \(1990\)](#). Para este modelo se utilizaron datos del modelo global World Ocean Atlas 2013 para construir las condiciones de borde e iniciales.

Evaluaci3n modelos numéricos.

El fiordo Puyuhuapi es uno de los fiordos en Chile con mayor n3mero de observaciones oceanográficas, donde en los últimos a3os se han llevado a cabo monitoreos regulares por parte de distintas instituciones, sin embargo, estas mediciones han sido en su mayoría de variables físicas debido a que muchas variables permiten tener un registro continuo.

En este sentido, para la evaluaci3n del modelo hidrodinámico se utiliz3 el ciclo anual de temperatura, salinidad superficial e intensidad y direcci3n del viento proveniente de la boya oceanográfica de Copas Sur Austral ubicada en el fiordo Puyuhuapi (44° 35.3'S; 72° 43.6' W) operativa a partir del 12 de abril de 2011 (<http://www.cdom.cl>). Las corrientes del modelo hidrodinámico fueron evaluadas contra un perfilador acústico de corrientes modelo RDI de 600 kHz, ubicado en la zona de intercambio entre el fiordo Jacaf y Puyuhuapi (44° 29.19'S 72° 43.43'W) entre los meses de agosto y octubre de 2014. Este equipo fue instalado a una profundidad de 30 m mirando hacia arriba y pertenece a estudios llevados a cabo por el Centro de Investigaci3n Oceanográfica Copas Sur Austral de la Universidad de Concepci3n.

Para evaluar el rendimiento del modelo hidrodinámico, se utilizaron tres criterios: Error de raíz cuadrática media (RMSE) (ecuaci3n 2), índice de Willmott (d) (ecuaci3n 3) ([Willmott et al. 1985](#)) y el coeficiente de correlaci3n de Pearson (r) (ecuaci3n 4). Con estos criterios se realizaron comparaciones cuantitativas entre valores simulados y los observados.

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (OBS_i - SIM_i)^2} \quad (2)$$

$$d = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (OBS_i - SIM_i)^2}{\sum_{i=1}^N (|SIM_i - \overline{OBS}| + |OBS_i - \overline{OBS}|)^2} \quad (3)$$

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N (OBS_i - \overline{OBS})(SIM_i - \overline{SIM})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (OBS_i - \overline{OBS})^2 \sum_{i=1}^N (SIM_i - \overline{SIM})^2}} \quad (4)$$

Donde, OBS_i es la variable observada y SIM_i es la variable modelada; $\overline{OBS}$ y $\overline{SIM}$ es el promedio en el tiempo de N valores. RMSE es una medida del error promedio entre el modelo y las observaciones en las unidades de las cantidades evaluadas. El Índice de Willmott (d) es una medida adimensional del error promedio relativo entre el modelo y las observaciones, donde una habilidad de 1 significa un acuerdo perfecto, y una habilidad de 0 significa que el modelo tiene un nulo acuerdo. El coeficiente de



correlaci3n de Pearson indica el grado de dependencia lineal entre lo observado y lo modelado, en donde, un valor de cero indica que no hay dependencia lineal entre las dos variables, mientras que un valor de 1 indica una dependencia lineal perfecta.

Con el fin de eliminar fluctuaciones de periodos menores a 24 horas las series de tiempo fueron filtradas con un filtro paso-bajo coseno de Lanczos con un periodo de corte de 40 horas y 121 pesos. Con la finalidad de evaluar el modelo biol3gico de *A. catenella* se utilizaron los datos del muestreo de marea roja de IFOP, y para la evaluaci3n del modelo biogeoquímico se utilizaron datos de oxígeno y nitrato de la campaña CIMAR 10 realizados en agosto y noviembre del 2004.

Conocer las tasas de máximo crecimiento de *Alexandrium catenella* a distintos rangos de temperatura, salinidad y nutrientes.

Experimento con distintas cepas de *Alexandrium catenella*.

Cultivos de *Alexandrium catenella*.

El cultivo inicial se desarrolló por triplicado en matraces esterilizados de 150 mL llenos con 100 mL de agua de mar filtrada enriquecida con medio L1 (Guillard & Hargraves 1993). La inoculaci3n de las microalgas se realizó una vez que el medio alcanzó la temperatura experimental deseada utilizando entre 1 a 5 mL de cultivo. El proceso de inoculaci3n fue realizado en condiciones asépticas bajo una campana previamente tratada con luz UV y flameando en un mechero la boca de los matraces para evitar contaminaci3n.

Los recuentos celulares se realizaron diariamente extrayendo 2 mL de cada cultivo homogenizado delicadamente. Las muestras fueron fijadas con Lugol y contabilizadas en una cámara Sedgewick-Rafter utilizando microscopía convencional o invertida (Garrido et al., 2012).

Los cultivos fueron mantenidos en una cámara termoregulada a 15°C, con un fotoperiodo de 12:12 h luz: oscuridad y una iluminaci3n de 100 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ proveniente de luces fluorescentes blancas frías.

Diseño experimental.

Antes de realizar el experimento, y con el fin de evitar cualquier tipo de interferencia debido a los cambios en las diferentes variables a medir, los cultivos fueron aclimatados escalonadamente a las diferentes condiciones experimentales a lo menos durante dos generaciones (1 a 2 meses), en el cual el cultivo, además, debió alcanzar un volumen y concentraci3n celular suficiente para comenzar el experimento. Para esto se inocularon 5 mL de cultivo en fase exponencial en matraces autoclavados de 150 mL (escalando luego a matraces de 250 mL) cada uno con 100 mL con agua de mar esterilizada enriquecida con medio de cultivo L1.

Para este primer experimento se seleccionó la cepa de *A. catenella* AC-CU recolectada desde el sector de Cucao en la Isla de Chiloé. Las tasas de crecimiento fueron obtenidas utilizando un diseño factorial



cruzado con 45 condiciones diferentes (Fig. 4.5.5), obtenidas combinando un total de 3 temperaturas (12, 15, 17 °C), 3 salinidades (15, 25, 35 psu), 3 intensidades lumínicas (50, 100, 150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y 3 concentraciones de nutrientes (2,2 – 4,4 – 8,8 M).

Una vez terminado el período de aclimataci3n cada uno de los in3culos de la cepa seleccionada fueron transferidos a matraces de 500 mL inoculando un volumen variable de células para obtener una concentraci3n aproximada de 300-500 cél mL⁻¹. Los cultivos se mantuvieron en cámaras con temperatura, luz y fotoperiodo controlados, los cuales fueron modificados según los requerimientos de cada experimento.

El día de inicio del experimento se tomaron 3 submuestras de 1 mL de cada uno de los matraces experimentales (tiempo inicial o T₀) y fueron fijadas en una soluci3n de Lugol (concentraci3n final 2%). Este mismo procedimiento para la toma de muestras se realiz3 cada tres días durante un periodo de 28 días para su posterior conteo a trav3s de un contador de células (Coulter Counter Beckman Z2).

Cálculo tasas de crecimiento.

Siguiendo el trabajo propuesto por [Guillard \(1973\)](#), las tasas específicas de crecimiento (μ) para cada especie, definidas como el incremento en la abundancia de células por unidad de tiempo, fueron estimadas a partir de la pendiente de una regresi3n lineal a lo largo de toda la fase exponencial de crecimiento. Esto fue realizado mediante el ajuste mínimo de una recta a los datos despu3s de la transformaci3n logarítmica a partir de la ecuaci3n logística de crecimiento aplicando el logaritmo natural del número de células. Se ha considerado que esto es lo más adecuado para describir el crecimiento de dinoflagelados los cuales durante las floraciones y en cultivo presentan reproducci3n binaria.

$$\mu = [\ln Ct / \ln Ci] / [\Delta t]$$

Donde; μ es la tasa de crecimiento específica para cada grupo de células, **Ct** y **Ci** son las abundancias celulares expresadas como el número de células obtenidas en los conteos en los tiempos al término e inicio de la incubaci3n, y Δt es el intervalo en días u horas transcurridos entre cada conteo. Para las curvas de crecimiento de cada especie se contaron tres réplicas y se utiliz3 el valor promedio.

Explorar nuevos sitios, dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas, donde realizar nuevos ejercicios de modelaci3n.

El área de estudio hasta ahora simulado, fiordos Puyuhuapi y canal Jacaf, representan un complejo ecosistema marino típico de fiordos, debido a que presenta una marcada circulaci3n estuarina producida por la descarga de agua dulce del río Cisnes y otros, además de una compleja batimetría. Otra complejidad de esta área de estudio est3 relacionada con las bajas concentraciones celulares registradas para *A. catenella*, donde se ha identificado que las mayores densidades se han registrado al interior de algunos canales (ej. canal Magdalena). Durante las últimas etapas del proyecto, nos



hemos concentrado en construir, evaluar y validar los modelos hidrodinámicos y biológicos en este ambiente, para ello nos hemos apoyado en una importante carga de datos que existen en esta zona, tanto por parte de IFOP, mediante la toma de datos de este proyecto, como por otros proyectos oceanográficos que ha realizado el grupo de Oceanografía de IFOP, además de los datos que pueden aportar otras instituciones.

Durante todo este tiempo el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf se han constituido como nuestro laboratorio natural en el cual se han desarrollado la mayor parte de los experimentos de modelaci3n física-biológica del proyecto. Sin embargo, creemos relevante evaluar nuevos sitios, dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas, donde continuar con el desarrollo y evaluaci3n de los modelos hidrodinámicos y biológicos. Para ello, durante esta etapa del proyecto se propone evaluar nuevos sitios para la modelaci3n, priorizando a trav3s de criterios como: la carga de datos oceanográficos y meteorológicos disponibles, tanto de IFOP como de otras instituciones, para el desarrollo del modelo hidrodinámico; la frecuencia de aparici3n y nivel de concentraci3n tanto de *A. catenella* como de toxina paralizante en los mariscos; niveles de abundancia relativa de *A. catenella*; disponibilidad de nutrientes; y el conocimiento de quiste de resistencia en sedimentos de los sitios a evaluar. Además, se debe considerar las posibles facilidades/problemas logísticos que conlleva el realizar los experimentos de modelaci3n en cada uno de los sitios.

Como forma de dar respuesta a esta actividad, se evaluó la frecuencia relativa porcentual acumulada de los valores de abundancia relativa de *A. catenella* sobre nivel 4, debido a que este valor corresponde a la categoría Abundante (Tabla 4.5.2). La frecuencia relativa porcentual acumulada se calculó con los registros de las muestras de *A. catenella* obtenidas entre mayo del 2006 a septiembre del 2018 pertenecientes a la red de estaciones del programa de monitoreo de las mareas rojas de las regiones de Los Lagos y Aysén.

Además, se recopilaron los datos oceanográficos y meteorológicos disponibles de los proyectos del grupo de oceanografía de IFOP, con la finalidad de relacionarlos con los resultados de frecuencia relativa porcentual acumulada de *A. catenella*.

Registro de parámetros oceanográficos y meteorológicos en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf.

Como una forma de atender a los aspectos anteriormente detallados, es que durante esta etapa el registro de parámetros oceanográficos y meteorológicos se incorpora como una actividad asociada al Objetivo específico 5 de modelaci3n.

Mediciones de campo.

Para el registro de datos oceanográficos del fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf (Fig. 4.5.6) se realizó un crucero entre el 14 y 20 de febrero del 2019. En el se efectuaron lances de CTD-O con un equipo Seabird 19 plus, en 10 estaciones a lo largo de ambos canales y 6 estaciones en el canal Moraleda (Fig. 4.5.7). Los datos de direcci3n y magnitud del viento se obtuvieron de la estaci3n meteorológica, ubicada en la isla Melinka (43°53'48.1"S, 73°44'45.6"O).



El registro de temperatura, salinidad y oxígeno en el tiempo se obtuvo de dos anclajes instalados en la boca del fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf desde el 2 de noviembre del 2018 al 6 de marzo del 2019. La ubicaci3n de los anclajes y profundidad de los sensores se indica en la Figura 4.5.8. Los sensores utilizados fueron: HOB0 U20, HOB0 U24, Star Oddi, MiniDOT y Ciclop, la frecuencia de medici3n fue de 30 minutos.

En cada estaci3n se recogieron muestras de agua de mar a 7 profundidades (0, 5, 10, 15, 20, 30 y 50 m) para los análisis de abundancia de fitoplancton y nutrientes, las cuales fueron recolectadas utilizando botellas Niskin de 5 litros. Para análisis de la abundancia del fitoplancton (*A. catenella*) se recolectó una submuestra de 250 mL de la muestra total que se recolectó con las botellas Niskin. Las muestras fueron almacenadas en botellas de plástico limpias, fijadas y preservadas en una soluci3n de Lugol al 1% previo análisis en laboratorio. Para el análisis de nutrientes (nitrato, nitrito, silicato y fosfato) una submuestra de 500 mL fue tomada a partir de la muestra obtenida con las botellas Niskin, la cual fue almacenada en botellas asépticas de polietileno de alta densidad y posteriormente congeladas a -20°C previo su análisis por espectrofotometría.

Velocidad del viento.

La velocidad del viento se obtuvo en base a la direcci3n y magnitud del viento, se calculó las componentes ortogonales U(este) y V (norte) y se corrigió la declinaci3n magnética, de esta manera los datos fueron orientados al norte geográfico. Posteriormente, la serie se filtró con un pasa-baja, coseno de Lanczos con un periodo de corte de 40 horas.

Hidrografía y series de tiempo.

Los datos hidrográficos fueron procesados y alineados con el software de CTD-O seabird 19 plus (data processing), luego un post análisis y finalmente se graficaron transectos en el programa Ocean Data View. Las series de tiempo se promediaron cada una hora y se filtraron con un pasa-baja, coseno de Lanczos con un periodo de corte de 40 horas, posteriormente se graficaron.

4.6 Metodología Objetivo Específico 6

6. Continuar con el análisis interpretativo iniciado en 2014 de la base de datos disponible desde mayo de 2006, segregando por complejo t3xico y fitoplancton nocivo asociado y en correspondencia con las variables bi3ticas y abi3ticas disponibles.

Durante el desarrollo de este objetivo se han realizado distintos análisis de la informaci3n recopilada por el programa, la cual se inici3 durante el 2014 abarcando en una primera etapa los antecedentes disponibles desde mayo 2006. Estos análisis se han continuado realizando en etapa sucesivas del programa haciendo énfasis en aspectos que permitan identificar las variables ambientales que determinan cambios en la ocurrencia temporal y en la distribuci3n espacial de las Floraciones de Algas Nocivas.



Durante esta Etapa XII del programa, el análisis de la base de datos disponible se ha centrado en el estudio del efecto de la variabilidad de las condiciones atmosféricas-oceanográficas sobre las distintas especies de microalgas nocivas contempladas en el programa. En este sentido, los estudios desarrollados consideran: 1) **Análisis de patrones climáticos de gran escala y su relación con FANs en fiordos y canales del sur de Chile de las regiones de Los Lagos y Aysén**, donde se evalúa la relación entre los eventos de gran escala como el Niño, la Oscilación Decadal del Pacífico y la Oscilación Antártica sobre la ocurrencia de los dinoflagelados nocivos. Para ello, datos oceanográficos, meteorológicos y biológicos generados de forma mensual a través de la serie de tiempo que abarca el periodo comprendido entre mayo 2006 a febrero 2017; 2) **Abundancia del micro-fitoplancton y *Alexandrium catenella* en relación con los índices climático-oceanográficos en la región de Magallanes, Chile: periodo 1997-2017**, donde se evalúa la correlación y significancia entre las condiciones climáticas asociados a los índices multivariados (SOI y AAO) sobre la abundancia celular del microfitoplancton y la abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, usando series de tiempo disponibles desde 1997 y 3) **Cobertura geográfica de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas y paralizante durante los últimos 20 años en el ecosistema de fiordos y canales sub-antárticos**, donde a partir de series temporales de la abundancia relativa disponibles, desde 1996 en el caso de *Dinophysis acuta* y *Alexandrium catenella* y desde el 2006 para *D. acuminata* y *Protoceratium reticulatum*, se evalúan las tendencias de distribución geográfica (Indicadores de dispersión) de estas microalgas en la región de Magallanes, este estudio y sus resultados constituyen una base de información relevante para próximos estudios que correlacionen esta distribución con la variabilidad oceanográfica observada en etapas anteriores de este programa.

De manera similar a lo reportado en etapas anteriores del programa, en este objetivo 6 se han incluido estudios generados de manera excepcional durante el periodo contemplado en esta Etapa XII, los cuáles no ha sido informados previamente y que resultan del acercamiento del programa hacia aspectos considerados como brechas de investigación y uso de herramientas analíticas nuevas, con el objetivo de ampliar el conocimiento de las FANs su ocurrencia y dinámica de desarrollo y el impacto asociado a la salud pública y las actividades económicas. Entre estos tópicos se encuentran: toxinas paralizantes en poblaciones naturales, especies nocivas emergentes, técnicas moleculares para la detección de dinoflagelados y quistes de resistencia de dinoflagelados. Asociado a estos tópicos se han desarrollado los siguientes estudios: 1) **Contenido y perfil de toxinas en poblaciones naturales de *Alexandrium catenella* en canales del sur de Chile**, en el cual se realizó una campaña para evaluar toxinas paralizantes en muestras naturales obtenidas durante una floración de *A. catenella* en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf, donde el análisis de estas muestras se realizó a través de HPLC, permitiendo evaluar la conocer la composición de las toxinas paralizantes y las posibles combinaciones de Saxitoxina y sus derivados en las muestras de agua; 2) **Respuesta a variaciones en salinidad y potencia citotóxica de *Pseudochatonella verruculosa* aislada desde el seno de Reloncaví**, donde a través de origen y mantención de cultivos celulares se realizaron análisis para identificar a *Pseudochatonella verruculosa* por medio de técnicas moleculares, conocer sus características morfológicas a través de microscopía electrónica de barrido y evaluar la citotoxicidad a partir de cultivos con células branquiales; 3) **Registro de dinoflagelados de los géneros *Karenias*, *Azadinium* y *Amphidoma* en la región de Magallanes**, donde a partir de los recuentos de



fitoplancton cuantitativo realizados por microscopía tradicional, desarrollado en la región de Magallanes, se evaluó la distribución espacio-temporal de estas especies, aspecto relevante para comprender la dinámica de estas microalgas que en el caso de las *Karenias* ha provocado eventos de mortalidad de peces en cautiverio debido a su ictiotoxicidad y de *Azadinium* la que puede generar toxinas emergentes del tipo azaspirácidos; 4) **Identificación molecular de los dinoflagelados *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii***, donde a partir de técnicas moleculares (qPCR) y uso de partidores específicos se trabajó en la identificación y cuantificación de las especies nocivas *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii*, utilizando para ello muestras de cultivo y probando en muestras de terreno provenientes del programa de monitoreo; 5) **Quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos de Los Lagos, Aysén y Magallanes**, donde se analizaron muestras de sedimentos, por medio de microscopía óptica y contraste de fases, las cuales fueron obtenidas durante otoño e invierno de 2018 y verano de 2019 en 18 estaciones de la red de monitoreo del programa y donde el objetivo fue conocer la diversidad, abundancia y distribución de quistes de dinoflagelados, con especial atención a quistes de especies nocivas.

Análisis de patrones climáticos de gran escala y su relación con FANs en fiordos y canales del sur de Chile de las regiones de Los Lagos y Aysén.

Chile posee un extenso sistema estuarino en su extremo austral, el cual está formado por gran número de islas entrelazadas por innumerables canales y fiordos los cuales se caracterizan por presentar una compleja dinámica oceanográfica y biológica, jugando un importante rol en la productividad biológica y los ciclos del carbono en los ecosistemas acuáticos de la región. Por otro lado, estos ecosistemas se caracterizan por presentar una amplia variedad de floraciones de microalgas nocivas (FANs), las cuales presentan algunos patrones característicos de abundancia y distribución en la zona.

Aunque algunas especies de microalgas nocivas son recurrentes en algunas áreas geográficas cada año, su abundancia en los fiordos y estuarios chilenos varía localmente y está determinada por factores físicos como luz, patrones de circulación, salinidad, temperatura y factores químicos como la disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, cambios anormales en estos parámetros pueden resultar en un aumento en la ocurrencia, densidad, cobertura geográfica y patrones de distribución de estas microalgas, así como eventos esporádicos de especies raras o menos abundantes de en la zona, con graves consecuencias en los recursos costeros, economía local y salud pública.

En este sentido, la modificación de las condiciones oceanográficas y meteorológicas producidas por eventos de gran escala tales como El Niño (ENOS), la Oscilación Decadal del Pacífico (ODP) y la Oscilación Antártica (OA) podrían tener una relación directa con la ocurrencia de floraciones de dinoflagelados nocivos en la zona sur de Chile. Por esto, el objetivo este análisis es mostrar la dinámica de las FANs para ver su relación con eventos de gran escala.

Para esto, se utilizaron datos oceanográficos, meteorológicos y biológicos generados de forma mensual a través de la serie de tiempo que abarca el periodo comprendido entre mayo 2006 a febrero 2017, realizando anomalías estandarizadas tanto de datos físicos (temperatura, salinidad, velocidad



del viento, presi3n barom3trica) y biol3gicos (abundancia relativa de las especies *Alexandrium catenella* y *Dinophysis acuminata*) en 20 sitios de muestreo distribuidos entre las regiones de Los Lagos y Ays3n. Ambas regiones fueron divididas en 4 sub-grupos (Fig. 4.6.1) los cuales fueron denominados de la siguiente forma: Los Lagos Norte (zona estuario de Reloncav3), Los Lagos Sur (Zona Quell3n), Ays3n Norte (Zona Melinka), y Ays3n Sur (Zona). De cada una de estas zonas se escogieron 5 estaciones de monitoreo tomando como criterio principal las que presentaban datos con mayor consistencia en el tiempo. Luego se realizaron anomal3as estandarizadas para toda la serie de tiempo de cada una de las estaciones de monitoreo con los par3metros f3sicos y biol3gicos antes mencionados. Una vez obtenidas las anomal3as estandarizadas se realizaron correlaciones de rangos de Spearman entre estas frente a los distintos 3ndices climatol3gicos como el 3ndice Multivariable de El Ni3o (MEI), el 3ndice de Oscilaci3n del Pac3fico (IODP) y el 3ndice de Oscilaci3n Ant3rtico (IOA) y adem3s de un 3ndice combinado (promedio) entre el MEI y el IODP. Adicionalmente se obtuvieron datos de una serie de tiempo satelital para radiaci3n fotosint3ticamente activa (PAR) (<https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni>).

Los datos de 3ndices climatol3gicos de gran escala para ver los efectos remotos de se3ales de baja frecuencia sobre la variabilidad oceanogr3fica y biol3gica se obtuvieron desde las siguientes p3ginas: 3ndice Multivariable del ENSO MEI: <http://www.esrl.noaa.gov/psd/data/correlation/mei.data>

3ndice Oscilaci3n Decadal del Pac3fico

<https://ds.data.jma.go.jp/tcc/tcc/products/elnino/decadal/annpdo.txt>

3ndice de Oscilaci3n Ant3rtico

http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/precip/CWlink/daily_ao_index/aao/monthly.aao.index.b79.current.ascii.table

Abundancia del micro-fitoplancton y *Alexandrium catenella*, en relaci3n con los 3ndices clim3tico-oceanogr3ficos en la regi3n de Magallanes, Chile: periodo 1997-2017.

El an3lisis de la data consisti3 en establecer el grado de correlaci3n y significancia existente entre la densidad celular del micro-fitoplancton y la abundancia relativa de *A. catenella* (AR-Ac) en la regi3n de Magallanes, con las condiciones clim3ticas y oceanogr3ficas asociadas a ENOS. Tales condiciones se encuentran reflejadas en las anomal3as expresadas en los 3ndices Multivariados de ENOS (sigla en ingl3s MEI), 3ndice de Oscilaci3n del Sur (sigla en ingl3s SOI) y la Oscilaci3n Diaria Ant3rtica (sigla en ingl3s AAO). Todos estos 3ndices son de dominio p3blico y se encuentran en las p3ginas de la NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration), en las siguientes direcciones:

<http://www.cpc.ncep.noaa.gov/data/indices/MEI>;

<http://www.ncdc.noaa.gov/teleconnections/enso/indicators/soi.php>;

http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/precip/CWlink/daily_ao_index/aao/ao .



Para el análisis de la data, se utilizó las series de tiempo desde 1994, de las variables densidad de micro-fitoplancton (Utermöhl, 1958); abundancia relativa (AR) de *A. catenella* (cél 100 μL^{-1} de muestra de agua sedimentada, recolectadas con red de trama de 20 μm , con arrastre vertical desde los 20 m de profundidad); temperatura del agua de mar y salinidad a 5 m de profundidad (T5m y S5m, respectivamente). Las variables fueron analizadas por área y estación de monitoreo. Las áreas definidas para la región de Magallanes son: Norte, N (comprende la Provincia de Última Esperanza); Centro, C (comprende el estrecho de Magallanes y zonas aledañas); Sur, S (canal Beagle) (Fig. 4.6.2). Las anomalías estandarizadas de estas variables se contrastaron con las anomalías estandarizadas que definen los índices MEI, SOI y AAO. También fueron estimadas las anomalías estandarizadas de la pluviometría, temperatura del aire, de las series de tiempo registradas para Punta Arenas, desde 1950, y presión atmosférica desde 1992, de la Estación Meteorológica "Jorge C. Schythe", del Instituto de la Patagonia, Universidad de Magallanes, Punta Arenas, Chile. Estas anomalías también fueron contrastadas con los índices y anomalías estandarizadas calculadas para las variables mencionadas arriba. Para el análisis estadístico se utilizó la correlación de rangos de Spearman (correlación no paramétrica), considerando las anomalías estandarizadas anuales y trimestrales) tanto de los Índices como de las variables. El análisis se realizó para cada área geográfica arriba definida (*i.e.* con el total de sitios de monitoreo por área) y por sitios representativos de éstas, que fueran seleccionados de acuerdo con los criterios: Grado de correlación de Spearman y significancia estadística, número de sitios con los que se correlacionó dentro de cada área geográfica (*i.e.* abundancia relativa y toxicidad por VPM).

Cobertura geográfica de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas y paralizante durante los últimos 20 años en el ecosistema de fiordos y canales sub-antárticos.

Las FANs en Chile, datan desde los años 70, cuando fue detectada por primera vez (1972) en el estrecho de Magallanes, la especie *Alexandrium catenella* (Guzmán & Campodonico 1975), dinoflagelado productor de veneno paralizante de los mariscos (VPM) con efectos fatales en las personas. Si bien, los primeros registros fueron esporádicos (1972, 1981, 1989), desde 1991, la microalga se hizo recurrente anualmente hasta nuestros días. Más tarde, en 1992, fue detectada en Aysén (Muñoz et al., 1992), y desde 1998 fue reportada en la región de Los Lagos (Lembeye et al., 1998). En 2009, *A. catenella* fue detectada en las aguas de la costa del océano Pacífico de la Isla de Chiloé (Mardones et al., 2010) y en 2016, la dispersión de esta microalga alcanzó los 39° S, región de Valdivia, a través de la costa Pacífico (Guzmán et al., 2017). En 20 años, esta especie cubrió la región de Magallanes, entre los 56 y 48°S, ampliando su cobertura geográfica a todo el sistema de fiordos (41°–55° S) en los últimos 40 años, y más recientemente, se expandió por la costa Pacífico a latitudes de Chile centro-sur. En la actualidad, esta especie es una de las más conocidas en el mundo, por su condición de cosmopolita. Sin embargo, durante los últimos ocho años, también se ha observado una mayor frecuencia de cierres de áreas marinas por parte de la Secretaría Regional Ministerial de Salud, destinadas a la extracción de moluscos por presencia de toxinas lipofílicas (TL) en la región de Magallanes. Esta situación afecta principalmente al sector de la Pesca Artesanal y la cadena productiva asociada. Históricamente, las microalgas productoras de toxinas lipofílicas eran poco conspicuas hasta 2012 (*e.g.* Guzmán et al., 2012, 2013; Pizarro, 2014). A partir de este año, la



concentraci3n de estas microalgas en el ambiente marino, fue en aumento, aunque con una notoria variabilidad interanual. Esta expansi3n geogr3fica de las TL, tambi3n se reflej3 en el aumento de la frecuencia de bioensayos positivos en ratones para el Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM) Magallanes (ISP 2010, 2013; Guzm3n et al., 2017, 2018). En este contexto, los dinoflagelados productores TL parecen expandirse en direcci3n sur despu3s de ser reportados por primera vez en las regiones de Los Lagos (42° S) y Ays3n (46° S), en 1970 y 1993, respectivamente.

El objetivo de este estudio fue analizar la tendencia observada considerando las series temporales anuales de abundancia relativa (AR) disponibles para Magallanes: Desde 1996 para *A. catenella* y *Dinophysis acuta*, y desde 2006 para *D. acuminata* y *Protoceratium reticulatum*. Las tres 3ltimas especies son productoras de TL en Chile: Pectenotoxinas, okadaatos y yesotoxinas, respectivamente (Blanco et al., 2006; Alvarez et al., 2011; Fux et al., 2011; Pizarro, 2014). El estudio constituye informaci3n base, para continuar con an3lisis futuros de variables oceanogr3fico-ambientales asociadas, que pudiesen correlacionarse con el tipo de dispersi3n geogr3fica observada por parte de las diferentes especies de microalgas. El par3metro utilizado para realizar el trabajo, es la Abundancia Relativa (AR). Este par3metro es m3s sensible a la presencia de microalgas y un indicador r3pido de obtener que la densidad de c3lulas L⁻¹. Por tal motivo, la AR se utiliza en los monitoreos de marea roja, como indicador de alerta temprana de la presencia de FANs, sobre todo productoras de toxinas que afectan la salud humana, para la toma de decisi3n de autoridades de salud p3blica, fiscalizadoras y/o administrativo-pesquero. Dado que la mayor base hist3rica de datos es de Magallanes, el an3lisis se realiza en esta regi3n, sin prejuicio que en an3lisis futuros se consideren las otras dos regiones. El procedimiento para obtener la AR es la siguiente: Recolecta de agua mediante red de arrastre vertical (trama 25 µm) desde los 20 m de profundidad. Se debe acumular 1 L de agua en un recipiente, se fija con formalina neutralizada (hasta llegar 2%) y se deja sedimentar durante 24 h. Se toma una al3cuota de 100 µL del material de fondo sedimentado, se deposita sobre un porta-objeto, y se cubre con un cubre-objeto 18x18mm (3 r3plicas). Se cuenta el n3mero de especies de inter3s, y se llevan a una escala de abundancia relativa de 10 niveles categorizados desde ausente (nivel 0) hasta mega abundante (nivel 9). Una AR >3 se considera como indicador umbral de alerta temprana de un eventual aumento (o no) en la intensidad de la floraci3n.

Las bases de datos de AR hist3ricas utilizadas en este trabajo, corresponden a los monitoreos sistem3ticos anuales (muestreo mensual) de marea roja, que iniciaron en el a3o 1997 en Magallanes, con cruceros de monitoreo incipientes en los a3os 93-94. En 2006, el monitoreo incorpor3 las regiones de Ays3n y Los Lagos, debido a su dispersi3n natural en direcci3n sur-norte a trav3s de del sistema de fiordos y canales del sur-austral de Chile, as3 como se incorpor3 las especies que hasta ese entonces se desconoc3a el tipo de toxina que produc3an como por ejemplo *D. acuminata* y *P. reticulatum*. Por este motivo, las fechas de inicio de las bases de datos son:

- Desde 1996 para *Dinophysis acuta* y *Alexandrium catenella*;
- Desde 2006 para *D. acuminata* y *Protoceratium reticulatum*



Los parámetros utilizados como **Indicadores de Dispersi3n** fueron: Nivel de AR (0-9), % presencia temporal anual (AR >0), % frecuencia de los diferentes niveles de AR (niveles 1-6, para graficar) y % cobertura geogrÁfica (i.e. N° de estaciones con AR>0).

Contenido y perfil de toxinas en poblaciones naturales de *Alexandrium catenella* en canales del sur de Chile.

El género *Alexandrium* se encuentra ampliamente distribuido en muchas regiones del mundo. En el sur de Chile, *Alexandrium catenella* fue descrito por primera vez en 1972 en Bahía Bell, Magallanes (Guzmán et al, 1975) extendiéndose en el 2016 a zonas estuarinas y oceánicas de la regi3n de Los Lagos, con un límite norte en la regi3n de Los Ríos (39°S). Muchas especies del género *Alexandrium* son productoras de Toxinas Paralizantes de los Mariscos (TPM), describiendo más de 50 análogos para este grupo de toxinas, los cuales varían en su configuraci3n química y toxicidad (Wiese et al., 2010), clasificando como un grupo altamente potente y alcaloides específicos que actúan a nivel neurotóxico, bloqueando los canales de sodio de la membrana celular, lo cual inhibe los impulsos nerviosos (Bergkvist et al., 2008). La toxicidad total en los dinoflagelados depende tanto del contenido de toxina por célula (fmol cel⁻¹), como de la composici3n de toxina, la cual difiere en las posibles combinaciones entre Saxitoxina (SXT) y sus derivados (Cembella et al., 1987). La diferencia en su composici3n tiene una importancia en la salud pública, debido a la diferencia de toxicidad entre la SXT. Esto también aporta al uso de herramientas de identificaci3n en estudios de interrelaci3n entre especies de dinoflagelados y poblaciones, o a unir ciertos dinoflagelados para perfiles de toxinas en mariscos (Anderson et al 1990). El contenido de toxina puede variar drásticamente en los diferentes estados de crecimiento (Proctor et al 1975), o bajo diferentes condiciones oceanográficas, tal como salinidad (Hwang and Lu, 2000), temperatura (Parkhill and Cembella, 1999), intensidad de luz (Etheridge and Roesler, 2005) y nutrientes (MacIntyre et al, 1997; Taroncher-Oldenburg et al, 1999).

Estaciones de muestreo en canales Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda

Durante una floraci3n de *Alexandrium catenella* en el área norte de Aysén, se realizó un crucero entre el 2 al 10 de febrero 2018 en los canales de Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda con 14 estaciones de muestreo (Ver cuadro).

Estaci3n	Nombre	Sector	Coordenadas
A22	Isla San Andr3s	Puyuhuapi	-44°55'57"S; -73°19'28"O
A20	Faro Marta	Puyuhuapi	-44°49'30"S; -72°58'10"O
A19	Seno Magdalena	Puyuhuapi	-44°40'34"S; -72°47'17"O
SM	Seno Magdalena interior	Puyuhuapi	-44°49'30"S; -72°58'10"O
A19N2	Seno Ventisqueros 2	Puyuhuapi	-44°27'29"S; -72°35'57"O
A16N1	Punta Apablaza	Jacaf	-44°31'05"S; -72°40'54"O
A17	Isla Bobadilla – Seno Soto	Jacaf	-44°25'60"S; -72°54'00"O
A15	Isla Toto	Jacaf	-44°15'07"S; -73°12'33"O
A14	Seno Miller	Jacaf	-44°15'48"S; -73°04'14"O
E2	Estaci3n 2	Moraleda	-44°14'02"S; -73°19'56"O
E3	Estaci3n 3	Moraleda	-44°19'03"S; -73°25'38"O



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISI3N DE INVESTIGACI3N EN ACUICULTURA

E4	Estaci3n 4	Moraleda	-44°27'24"S; -73°28'49"O
E5	Estaci3n 5	Moraleda	-44°39'59"S; -73°31'36"O
E6	Estaci3n 6	Moraleda	-44°50'38"S; -73°31'15"O

Obtenci3n de la muestra

Las muestras de agua fueron recolectadas a trav3s de botellas Niskin de 5 litros, mediante arrastres verticales desde los 20 m a superficie.

An3lisis de fitoplancton

Para an3lisis de la abundancia del fitoplancton, se recolect3 una submuestra de 250 mL de la muestra total que se recolect3 con las botellas Niskin. Las muestras fueron almacenadas en botellas de pl3stico, siendo fijadas y preservadas inmediatamente con una soluci3n de Lugol al 1%.

An3lisis de toxinas

Las muestras de agua fueron filtradas a trav3s de filtros GF/F de 47 mm de di3metro y congeladas inmediatamente (-20°C), hasta ser analizadas en el Laboratorio de HPLC. De esta manera, la identificaci3n y cuantificaci3n de toxinas paralizantes fue realizada en un cromat3grafo l3quido Shimadzu LC-10 ADvp, equipado con horno de columna CTO 10-10 Avp a 35°C, con detector de fluorescencia (CL-F1) siguiendo el m3todo de [Franco & Fern3ndez-Vila \(1993\)](#). Una columna Inertsil ODS-3 C18 (150 x 4.6 mm ID, 5 micras) (GL Sciences Inc., Jap3n) fue utilizado para confirmar la presencia de GTXs, dcGTXs y Cs en los est3ndares y las muestras, mientras que una columna Licrosphere 100 RP-18 (12.5 x 4 mm ID, 5µm), se us3 para la separaci3n de SXT, neoSTX y dcSTX. El primer eluyente isocr3tico para la separaci3n de SXT, neoSXT y dcSTX, aplicado a un flujo de 1 mL min⁻¹, consisti3 en 94% 1mM de octano sulfonato de sodio (OSA) en 10 mM de 3cido fosf3rico (H₃PO₄), y se ajust3 a pH 7.2. Se le aña-di3 acetonitrilo hasta obtener un 6%. El segundo eluyente isocr3tico para separar las GTXs y dcGTXs, aplicado a un flujo de 0.8 mL min⁻¹ que consisti3 en 2 mM de tetrabutilamonio fosfatos en 10 mM H₃PO₄ y se ajust3 a pH 6.0. Todas las soluciones acuosas fueron ajustadas a pH con 0.5 M de Hidr3xido de Amonio (NH₄OH). Para la reacci3n de oxidaci3n y acidificaci3n postcolumna, los reactivos fueron aña-didos mediante dos bombas de la Serie I LabAllinace. La reacci3n de oxidaci3n se llev3 acabo en una bobina de tefl3n (10 m, 0.5 mm DI) a 65°C usando 0.5 mL min⁻¹ mM de 3cido 7.0 peri3dico y 50 mL H₃PO₄ soluci3n acuosa, la cual se ajust3 a pH 9.0 con 5M de Hidr3xido s3dico (NaOH). El efluente se acidific3 con 0,5 mL min⁻¹ 0,5M de 3cido ac3tico. Los derivados de la toxina fluorescentes se detectaron con un detector espectrofluorom3trico Shimadzu RF-551, equipado con una l3mpara de 150 W xen3n (Ushio), una celda de flujo de 12 L, con longitud de onda de excitaci3n de 330 nm y emisi3n de 390 nm (15 ± 5 nm de ancho de banda), y una relaci3n seña l ruido de 3.

An3lisis de nutrientes

Las muestras de agua fueron filtradas a trav3s de filtros de jeringa Millipore Millex PVDF 0.45 µm y congeladas inmediatamente (-20°C) hasta su an3lisis en laboratorio. Los an3lisis de Nitrito (NO₂⁻) y Nitrato (NO₃⁻) se realizaron a trav3s de un autoanalizador de nutrientes AQ-400 marca SEAL Analytical y las t3cnicas a aplicar, en el caso de los nitritos y nitratos, est3n basado en el EPA 600/R93/100, m3todo 353.2, rev 2.0.



Registro de dinoflagelados de los g3neros *Karenias*, *Azadinium* y *Amphidoma* en la regi3n de Magallanes.

En las 84 estaciones presentes en la regi3n de Magallanes, se realizaron muestreos de la columna de agua entre los 20 m de profundidad y superficie, utilizando una manguera de 2,5 cm de diámetro. La columna de agua fue fraccionada en dos: superficie a 10 m y de 10 a 20 m de profundidad (se recolect3 una muestra por estrato). El agua contenida en cada uno de los estratos obtenidos de la manguera es traspasada a un recipiente donde es homogenizada para luego tomar una muestra en un frasco de 125 mL las cuales son fijadas con Lugol para su posterior analisis en laboratorio. Las muestras fueron contabilizadas a nivel espec3fico en c3maras de sedimentaci3n, cuyo volumen fue seleccionado de acuerdo a la concentraci3n de la muestra. La c3mara m3s utilizada fue la de 10 mL, pero tambi3n se utilizaron c3maras de 50 mL dependiendo de la densidad en cada muestra. Para el recuento celular se aplic3 la t3cnica de [Uterm3hl \(1958\)](#), en microscopios invertidos dotados con contraste de fase.

Respuesta a variaciones en salinidad y potencia citot3xica de *Pseudochattonella verruculosa* aislada desde el seno de Reloncav3.

Área de estudio

En los fiordos del norte de la Patagonia (42–44°S), donde se han registrado eventos de floraci3n de *Pseudochattonella*, la distribuci3n vertical de las masas de agua presenta una estructura de tres capas. Una capa superficial de aguas estuarinas (AE) (AE-Marinas de 21 a 31 psu; AE-Salobres de 11 a 21 psu y AE-Agua dulce de 2 a 11 psu) entre 0 y 20–30 m que aumenta su salinidad a medida que se aleja de las fuentes de agua dulce (Fig. 4.6.3 A). Una capa intermedia de aguas subantárticas (ASA 33 psu) entre 30 y 150 m que entra en la parte interior de los fiordos desde el sur. La mezcla entre AE y ASA en la parte interior de los fiordos se denomina Aguas Subantárticas Modificadas (ASAM). Una capa profunda de restos de aguas subsuperficiales ecuatoriales (ESSW > 33) desde 150 m hasta el fondo oceánico penetra en el mar interior de Chilo3 a trav3s del canal de Chacao y boca del Guafo (Fig. 4.6.3 B) ([Silva et al., 1998](#)). Seg3n [Castillo et al. \(2015\)](#), las aguas en el fiordo de Reloncav3 est3n dominadas a lo largo de las estaciones por AE en la capa superior y ASAM en la capa profunda.

Origen y mantenci3n de cultivos

Microalgas

Un cultivo monoclonal de la dictyochophyta *Pseudochattonella* ARC498 se origin3 a partir de una c3lula vegetativa obtenida desde el seno de Reloncav3 durante la floraci3n de 2016. Los cultivos no ax3nicos se mantuvieron en medio F/2 ([Guillard & Ryther, 1962](#)) a 15°C en agua de mar filtrada y esterilizada (0,22 µm) (25 psu) a 20 µmol fot3n m⁻² s⁻¹ (lámparas fluorescentes blancas frías) bajo un r3gimen lumínico 12:12 h luz:oscuridad.

Líneas celulares branquiales

La línea celular RTgill-W1, originalmente cultivadas a partir de los filamentos de las branquias de trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* ([Bols et al., 1994](#)), se adquirió de la American Type Culture Collection (CRL-2523, ATCC). Las c3lulas se cultivaron en frascos de 25 cm² (3100-025, Iwaki) a 17°C



en oscuridad en medio L-15 de Leibovitz (L1518 Sigma), suplementado con suero fetal bovino al 10% (v/v) (FBS, 12003C, Sigma) y una solución antibiótica-antimicótica (A5955, Sigma) que contiene anfotericina B (25 mg mL⁻¹), estreptomycin (10 mg mL⁻¹) y penicilina (10,000 unidades mL⁻¹). Se utilizó 0.25% de tripsina - 0.02% de EDTA en solución salina equilibrada (59428C, Sigma) para separar las células que crecieron como una monocapa adherente en el fondo de los frascos. Los sub-cultivos se repicaron normalmente dos veces por semana en una proporción de 1:2 en relación al medio L-15.

Identificación molecular de *Pseudochattonella*

Las células provenientes cultivos monoclonales de la cepa ARC498 (número de acceso de GenBank MK106355.1) se concentraron mediante centrifugación a 1500 g durante 10 minutos a 4°C, el sobrenadante se descartó y los agregados celulares se incubaron a 65°C durante 3 horas en 1 mL de tampón CTB y 10 µL de proteinasa K (10 mg mL⁻¹). La región LSU (D1-D3) del gen rDNA se amplificó utilizando los partidores D1R y D2C (Edvardsen et al., 2003; Scholin et al., 1994) en un Thermo-Cycler SimpliAmp (Applied Biosystems). El protocolo de PCR fue el siguiente: paso de desnaturalización inicial a 95°C durante 1 min, seguido de 35 ciclos a 95°C durante 30s, 56°C durante 30s, 72°C durante 30s, seguido de una extensión de 7 min a 72°C. Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 1,5% y el producto se purificó utilizando el kit de purificación de banda de gel y ADN de Illustra GFX PCR (GE Healthcare) y se secuenció en ambas direcciones en Macrogen Korea. Las secuencias de ADN de LSU se alinearon junto con las secuencias disponibles en GenBank utilizando MUSCLE (Edgar, 2004), implementado en Geneious (Biomatters Ltd.). Las regiones inalienables se excluyeron de la alineación de LSU. Se usó jModeltest (Posada, 2008) para identificar modelos apropiados de evolución de secuencia (LSU: GTR + I) y se realizaron análisis de máxima verosimilitud utilizando PhyML (Guindon et al., 2010). Los valores de soporte se estimaron mediante la prueba de relación de verosimilitud (aLRT, Anisimova & Gascuel, 2006) y el análisis bootstrap (1000 repeticiones). Los análisis bayesianos se realizaron utilizando MrBayes V3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) utilizando el modelo apropiado (GTR + I).

Características morfológicas y crecimiento de los cultivos de *Pseudochattonella*

Imágenes obtenidas en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

El análisis MEB se realizó siguiendo Botes et al. (2002). Brevemente, un cultivo de *P. verruculosa* se fijó 1:1 con 2% de tetróxido de osmio (OsO₄) mezclado con agua de mar filtrada. La solución al 1% de células fijas y OsO₄ se aplicó sobre cubreobjetos recubiertos con poli-L-lisina (P-4832, Sigma) y se dejó durante aproximadamente 30 minutos para la adhesión de las células de *P. verruculosa* a los cubreobjetos. Las células unidas se lavaron sumergiendo los cubreobjetos durante 10 min en una solución 1:1 de agua destilada y agua de mar filtrada, seguido de un lavado de 10 min en agua destilada. Los cubreobjetos se tomaron luego a través de una serie graduada de etanol (30, 50, 70, 80, 90, 95 y 100%, 10 minutos en cada paso). Tras la eliminación del etanol al 100%, se agregaron inmediatamente unas gotas de hexametildisilazano (HMDS) sobre los cubreobjetos para sustituir el punto crítico de secado (CPD). Las muestras se recubrieron con oro-paladio (60:40) y se observaron con un JEOL JSM 6380LV SEM.



Crecimiento de los cultivos de Pseudochattonella

Cultivos de *P. verruculosa* ARC498 en etapa de crecimiento exponencial se aclimataron a los tratamientos de salinidad objetivo (15, 20, 25, 30 y 35 psu) durante 3 semanas antes de los experimentos (correspondientes a 10 generaciones). Los cultivos pre-aclimatados se inocularon en matraces estériles de 60 mL de poliestireno que contenían 50 mL de medio F/2 ajustados a las condiciones de salinidad objetivo. Todos los tratamientos se realizaron en triplicado con una densidad celular inicial de 500 cel mL⁻¹. Se ajustó la intensidad de la luz a 20 µmol fot3n m⁻² s⁻¹, ya que se consideró la irradiancia de saturaci3n 3ptima para el crecimiento de la cepa ARC498 a partir de mediciones pre-experimentales (datos no mostrados). Así, las tasas de crecimiento obtenidas en los cinco tratamientos de salinidad corresponden a tasas máximas. El experimento se llevó a cabo durante 27 días con muestras para conteo celular tomadas cada 3 a 7 días. La concentraci3n celular se determinó inmediatamente despu3s del muestreo, en funci3n de las células fijas con Lugol tamponado, cuantificadas bajo un microscopio de luz invertida (Olympus, CKX41) utilizando una cámara de Sedgewick-Rafter. En cada fecha de muestreo, se usó el número de células promedio obtenido de las tres réplicas para calcular la tasa de crecimiento µ (d⁻¹) según:

$$\mu = \frac{\ln(c_1/c_0)}{t_1 - t_0}$$

donde c_0 y c_1 corresponden a las concentraciones celulares (cél mL⁻¹) al inicio (t_0) y al final (t_1) del período de incubaci3n (días), respectivamente. Al final del experimento, todos los cultivos se dejaron durante 15 días en las condiciones experimentales originales para observar el comportamiento de las agregaciones de células multinucleadas según lo descrito por [Tomas et al., \(2004\)](#). Se cree que estas agregaciones de células sirven como etapas de reposo y pueden potencialmente liberar un gran número de células hijas, lo que podría alterar la estimaci3n *in vitro* de las tasas de crecimiento debido a un aumento repentino de células.

Medici3n de citotoxicidad en Pseudochattonella

El ensayo de citotoxicidad con *P. verruculosa* se llevó a cabo utilizando microplacas convencionales de múltiples pocillos de acuerdo a [Dorantes-Aranda et al., \(2011\)](#). Los cultivos con células branquiales confluentes se tripsinizaron (59428C, Sigma) para el desprendimiento, se contaron con un hemocitómetro y se ajustaron a una concentraci3n de 2 x 10⁵ cél mL⁻¹ en medio L-15. Posteriormente, las células branquiales se sembraron por cuadruplicado en microplacas de fondo plano de 96 pocillos (3860-096, Iwaki, Jap3n), utilizando un volumen de 100 µL por pocillo. Despu3s de 48 horas a 17°C en oscuridad donde las células branquiales se adhirieron al fondo del frasco, se descartó el medio L-15, las células se enjuagaron con PBS y se expusieron a un tratamiento de 100 µL de células lisadas de *Pseudochattonella* y medio sobrenadante de cultivos a 25 y 35 psu a 17°C en oscuridad. El uso de estas salinidades se explica a continuaci3n: una salinidad de 25 corresponde a un valor medido por encima de la picnoclina durante el evento El Niño 2016 en el seno de Reloncaví ([Clément et al., 2016](#)), y valores de 35 psu son consistentes con los valores de salinidad medidos en el agua sub-superficial ecuatorial en el océano expuesto (AESS) ([Silva et al., 1998](#)). Los tratamientos con sobrenadantes y



células lisadas se prepararon a partir de cultivos de *Pseudochattonella* en la fase de crecimiento exponencial en cinco concentraciones diferentes (10, 100, 1000, 10,000 y 100,000 cél mL⁻¹). La suspensión de sobrenadante se preparó mediante centrifugación de cultivos durante 5 minutos a 3500 rpm y luego se diluyó cuando fue necesario. La suspensión de células lisadas se preparó por sonicación de muestras diluidas durante 10 minutos a una amplitud de 10 µm (peak to peak) a 17°C y se filtró usando una jeringa con un filtro de nylon (0,22 µm). Después de 1h de exposición, se determinó la viabilidad de las células branquiales utilizando medio L-15/ex (Schirmer et al., 1997), una versión modificada del medio L-15, que contiene el 5% del colorante indicador alamarBlue (DAL1025, Invitrogen) (Pagé et al., 1993). El medio que contiene el colorante indicador se agregó a todos los pocillos sembrados con células y se incubó durante 2h en la oscuridad (Dayeh et al., 2005). Usando un lector de microplacas (FLUOstar OMEGA, BMG Labtech), la señal de fluorescencia de alamarBlue se detectó usando filtros de excitación y emisión de 540 y 570 nm, respectivamente. La viabilidad de las células branquiales se expresó como porcentaje de respuesta de los tratamientos en relación con los controles (% de control).

Análisis de datos

Para explorar el efecto de la salinidad en el crecimiento y la potencia ictiotóxica de *P. verruculosa*, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) basado en modelos de regresión lineal simple sobre la densidad celular máxima, la tasa de crecimiento específica máxima (u_{max}) y la viabilidad de las células branquiales vs la densidad celular de *Pseudochattonella* (compuestos intra- y extracelulares). La normalidad y la homogeneidad de las varianzas se evaluaron mediante el método de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Levene. Se realizó un análisis post hoc utilizando una prueba Tukey HSD para determinar las diferencias entre los tratamientos. La hipótesis nula (sin diferencias en las respuestas) se rechazó en todos los análisis estadísticos si el valor p respectivo correspondía a <0.05 . Estos análisis se realizaron utilizando el software R v. 3.0.1 (Ihaka and Gentleman, 1996; <http://www.r-project.org>).

Identificación molecular de los dinoflagelados *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii*

Existen numerosas formas para monitorear ecosistemas costeros con la finalidad de una detección oportuna sobre la presencia de especies de microalgas nocivas que puedan causar daños a la salud pública (imágenes satelitales, microscopía, modelación biológica, análisis de toxinas, etc.), sin embargo, las especies que componen el fitoplancton representan un desafío para la taxonomía clásica debido a las similitudes morfológicas entre especies, existencia de especies tóxicas y no tóxicas, ciclos de vida complejos, entre otros aspectos (Dyhrman et al. 2006). En la actualidad, el desarrollo de técnicas moleculares de identificación ha aumentado en los últimos 15 años, generando valiosa información en cuanto a la presencia y distribución de especies a lo largo de los diferentes océanos (Anderson et al. 2012). Particularmente la genómica es el área que se ha visto particularmente favorecida en términos de aumento exponencial de secuencias de diferentes especies depositadas en base de datos online (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), directamente relacionado al desarrollo de técnicas de secuenciación. Esta disciplina se enfoca en el análisis de secuencias nucleotídicas para analizar sistemas biológicos complejos, y quizás representa la fuente más probable de innovación en



las técnicas de monitoreo en ecosistemas marinos (Bourlat et al. 2013). Una de sus aplicaciones ha sido el análisis de variación de nucleótidos y el descubrimiento a gran escala de marcadores genéticos, que pueden ser usados para evaluar la diversidad genética dentro y entre especies relacionadas, para investigar aspectos poblacionales como su demografía y estructura genética (Casibianca et al., 2017). En la actualidad, la aplicación de un marcador genético como criterio para identificar y cuantificar especies nocivas han sido descritas en varias especies, incluyendo al género *Alexandrium* (Hosoi & Sako, 2005), uno de los principales responsables de florecimientos nocivos en las costas chilenas y el mundo.

Uno de los métodos derivados de la síntesis en cadena de la polimerasa (PCR) es la PCR cuantitativa (qPCR), la cual incorpora en su reacción un fluoróforo que se une a la doble hebra de ADN, reacción que produce fluorescencia y que es capturada por un sensor, permitiendo ver en tiempo real como a partir de un fragmento se obtienen millonésimas copias del mismo. Su especificidad está asociada a la identificación de regiones en el ADN especie-específicas para el diseño de primers que permitan la identificación precisa de la especie de interés (Farrell et al. 2016). Este método resulta atractivo desde el punto de vista de la especificidad y su rapidez en el tiempo de análisis, lo cual permite detectar rápidamente un número limitado de organismos eucarióticos y/o procariotas específicos dentro de un escenario ecológico mixto (Galluzzi et al. 2005). Los riesgos ecológicos y económicos que se asocian a un FAN han sido uno de los principales factores que han gatillado la utilización de la qPCR como un método rápido y rentable que detecte especies potencialmente dañinas y productoras de toxinas en áreas geográficas donde se produce la pesca y acuicultura (Farrell et al. 2016), sin embargo, el diseño de marcadores para la detección de especies pertenecientes al género *Alexandrium* no ha sido desarrollada para las costas chilenas. Dentro de los marcadores rutinariamente escogidos para la identificación de regiones genómicas especie-específicas, se destaca los genes ribosomales 18S (SSU o Small subunit ribosomal gene) y 28S (LSU o Large subunit ribosomal gene), la subunidad 5.8S y dos espaciadores transcritos internos (ITS1 e ITS2) (Kavanagh et al. 2010). Particularmente los genes 18S y 28S presentan regiones altamente conservadas, por lo tanto, son útiles para establecer relaciones filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos (Edvardsen et al. 2003; Galluzzi et al. 2005), además, han sido reportadas en diferentes especies de dinoflagelados (Edvardsen et al. 2003; Galluzzi et al. 2005; Akselman et al. 2015; Vandersea et al. 2017).

Una modificación a qPCR basado en sondas de hibridación es el método denominado TaqMan, el cual además de los 2 partidores usados normalmente, se agrega una sonda marcada en sus extremos 5' con un quencer y en su extremo 3' un reporter, los cuales al momento de hibridar con el ADN complementario generan fluorescencia, que al igual que en el qPCR tradicional, es detectado por un sensor. La ventaja de agregar esta sonda es que la especificidad de la amplificación aumenta ya que es específica para el producto de PCR generado usando los partidores anteriormente señalados (Hosoi & Sako 2005; Kavanagh et al., 2010). Para el género *Alexandrium* el desarrollo de sondas TaqMan ha sido descrita utilizando genes involucrados en la producción de toxina, como por ejemplo el gen de la saxitoxina (STX). Este mecanismo de producción de toxina ha sido bien descrito en cianobacterias, pero en dinoflagelados aún no ha sido bien dilucidado, por lo que el desarrollo de sondas en genes involucrados en este proceso es un área poco desarrollada (Casibianca et al., 2017; Savelle et al., 2016).



La caracterizaci3n de marcadores moleculares en dinoflagelados para una r3pida y precisa detecci3n en especies como *A. catenella* y *A. ostenfeldii* en las costas chilenas representa un desaf3o importante, ya que la informaci3n generada puede ser r3pidamente entregada a las autoridades correspondientes para la toma de decisiones, como por ejemplo, el cierre de zonas de extracci3n de mariscos, sin embargo, es necesaria una correcta calibraci3n de la t3cnica para asegurar que la abundancia celular (cel mL^{-1}) sea reflejada a nivel molecular.

Dise1o de marcadores moleculares

Se descargaron secuencias del gen 28s (LSU) y 18s (SSU) de las especies *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, provenientes de la base de datos NCBI en la secci3n nucle3tidos, las cuales se alinearon para buscar regiones conservadas que permitan el dise1o de primers (Forward and Reverse) para la t3cnica de qPCR, los cuales fueron enviados a sintetizar en la empresa IDT (Integrated DNA Technologies, <https://www.idtdna.com/>). Una vez recibidos los nuevos primers se probar3n en muestras cultivos monoclonales de las especies objetivo (*A. catenella* y *A. ostenfeldii*), en diferentes concentraciones celulares para determinar los l3mites de detecci3n y tambi3n en muestras de ambiente.

Extracci3n de ADN

Para las muestras de cultivo la extracci3n de ADN se realizar3 a partir de un volumen de 10mL, el cual se filtr3 usando papel de microfibra de 47mm de di3metro (WhatmanTM) y apertura de poro de 1.2 μm . La extracci3n de ADN se evalu3 usando tres m3todos distintos: CTAB, Kit Qiagen DNA plant y Fenol-cloroformo, con la finalidad de optimizar la cantidad y la calidad de ADN extra3do, el cual ser3 cuantificado usando el kit dsDNA BR Assay (Invitrogen) y el equipo Qubit V4 (Invitrogen) mientras que la integridad se corrobor3 usando geles de agarosa.

PCR con partidores especie-espec3ficos

La PCR usando los partidores dise1ados anteriormente ser3 en un volumen de reacci3n de 25 μL , la cual ser3 compuesta por los reactivos descritos en el cuadro. El producto de PCR obtenido se purific3 usando el kit EZNA, el producto se envi3 a secuenciar a la empresa MACROGEN Inc (Korea), con la finalidad de establecer la especificidad de los partidores con las especies objetivo.

Reactivos y vol3menes ocupados para la PCR de secuenciaci3n.

Reactivos	μl
Buffer	1,5
dNTPs	1,5
MgCl	0,75
F	0,5
R	0,5
Taq	0,07
H ₂ O	17,68
ADN	5



PCR en tiempo real

Una vez determinada la especificidad de los partidores antes sealados mediante PCR tradicional, se emplear3 diluciones seriadas para determinar la eficiencia de estos, usando PCR tiempo real (qPCR). Con la eficiencia establecida anteriormente los primers ser3n testeados en muestras de monocultivo en una bater3a de concentraciones desde 25 a 3000 c3l mL⁻¹ con la finalidad de detectar los l3mites de detecci3n. De forma paralela los partidores se probar3n en muestras de ambiente para determinar concentraciones de las especies objetivos en este tipo de muestras usando el kit Master mix LightCycler 480 II.

Quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos de Los Lagos, Ays3n y Magallanes

Muestreo de sedimentos y an3lisis de quistes de dinoflagelados

Previo revisi3n de los resultados obtenidos bajo este mismo programa en etapas previas, y la de otros programas (e.g. CIMAR), las muestras de sedimentos para el estudio de quistes de dinoflagelados fueron recolectadas a trav3s de buceo desde un total de 16 sitios considerando el tipo de sedimento m3s apropiados (limo, arcillas y arenas finas). Los sitios est3n distribuidos en las tres regiones administrativas consideradas en este programa (ver cuadros). El muestreo se realiz3, secuencialmente, primero en la regi3n de Los Lagos, luego en regi3n de Magallanes y finalmente en la regi3n de Ays3n, en oto3o e invierno de 2018 y verano de 2019, respectivamente. Para ello se utiliz3 un frasco cil3ndrico de 3 cm de boca con tapa y contratapa y recogiendo el material depositado s3lo en los tres primeros cent3metros de sedimentos en cada estaci3n. Las muestras no fueron fijadas y los frascos fueron cubiertos con papel de aluminio y almacenados a 4°C para evitar la germinaci3n de los quistes.

Sitios de muestreo de sedimentos en la regi3n de Los Lagos

Estaci3n	Asasao	Pichicolo	C. Dalcahue	I. Talc3n
C3digo	L22	L06N3	L11	L14
Fecha	17-05-18	27-03-18	29-03-18	

Sitios de muestreo de sedimentos en la regi3n de Ays3n

Estaci3n	S. Canalad	S. Medio	S. Ventisquero 2	I. Canquenes	C. Grande
C3digo	A18N2	A18N3	A19N2	A26	A52
Crucero	Cr10	Cr10	Cr10	Cr10	Cr10
Fecha	14-01-2019	14-01-2019	14-01-2019	15-01-2019	15-01-2019



Sitios de muestreo de sedimentos en la regi3n de Magallanes

Estaci3n	B. Liberta	C. Williams	B. Ensenada	E. Wickham	B. Cordes	B. Bell	P. Eugenia
C3digo	M05	M17	M18	M26	M32	M33	M46
Crucero	Cr5	Cr5	Cr5	Cr5	Cr5	Cr5	Cr5
Fecha	22-07-2018	25-07-2018	25-07-2018	10-08-2018	09-08-2018	12-08-2018	27-08-2018

Las muestras de sedimento fueron procesadas siguiendo el m3todo biol3gico de limpieza y concentraci3n de quistes descrito por [Matsuoka & Fukuyo \(2000\)](#). Resumidamente, el m3todo consisti3 en mezclar una cantidad conocida de sedimento (entre 1 y 3 cm³ de sedimento h3medo) con agua de mar filtrada, sonicar con ultrasonido para separar las part3culas de los quistes, y filtrar a trav3s de mallas de 100 μ m y 20 μ m. La fracci3n 100-20 μ m es lavada con agua de mar filtrada y luego traspasada a un contenedor de vidrio graduado anotando su volumen final. De este volumen, una al3cuota de 1 mL fue analizada utilizando una c3mara de conteo Sedgewick-Rafter bajo aumentos de 100x y 400x utilizando un microscopio 3ptico con contraste de fases y c3mara digital.

La identificaci3n de los quistes fue realizada de acuerdo a sus caracter3sticas morfol3gicas, tales como, tipo de pared, procesos, color y arqueopilo (estructura por donde sale la c3lula al germinar el quiste), referidas en publicaciones especializadas (e.g. [McMinn et al., 2010](#); [Mertens et al., 2012](#); [Zonneveld & Pospelova, 2015](#); [Liu et al., 2015](#); [Mudie et al., 2017](#)).

4.7 Metodolog3a Objetivo Espec3fico 7

7. Mantener la distribuci3n de la informaci3n generada por el programa orientada a la autoridad y a todo p3blico.

Sistema de distribuci3n de la informaci3n.

La modificaci3n aplicada en la etapa previa, se ha continuado aplicando, particularmente en lo que se refiere a los estimadores de abundancia relativa, sin perjuicio de la inclusi3n de otras variables que son registradas en el programa. El trabajo ha estado orientado hacia dos p3blicos objetivo, el representado por la autoridad de Salud y Pesca-Acuicultura, entre los que se incluyen tambi3n los especialistas y profesionales con entrenamiento superior interesados en floraciones de algas nocivas y toxinas marinas, y el P3blico en general. Respecto de los primeros, interesa que la informaci3n, esto es, abundancia relativa de diferentes taxones, sea de conocimiento y compresi3n r3pida y simple. Se mejor3 la representaci3n gr3fica de los estimadores, tanto para dimensionar los cambios temporales, pero tambi3n para apreciar de una mejor forma la distribuci3n espacial. Por lo mismo el SIG que est3 actualmente habilitado, y la p3gina WEB institucional, fueron modificados para lograr un acceso simple y disponer en forma peri3dica de estos antecedentes. En cuanto al otro colectivo, esto es, p3blico en



general, se ha incorporado la información a Twitter y Facebook, de una manera resumida y sintética a fin de que las personas puedan lograr una idea cabal de la distribución y abundancia de las microalgas nocivas.

Las estimaciones de abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, han tenido prioridad, segregando por sector geográfico y/o presentación global de la información en toda el área de estudio. En la distribución de la información siempre se ha privilegiado la autoridad pertinente. Se ha simplificado la complejidad del mensaje cuando está dirigido a personas no entrenadas pero que requieren antecedentes respecto de lo que ocurre en su entorno.

4.8 Metodología Objetivo Específico 8

8. Realizar un taller de presentación de resultados (mayo 2006 – febrero 2019), con énfasis en los resultados obtenidos durante la etapa XII, sin perjuicio de comprometer la presentación de trabajos indistintamente en seminarios, congresos, conferencias, simposios y/o publicación de artículos científicos.

Se realizó un Taller de Finalización el día martes 14 de mayo 2019, el cual estuvo orientado a la difusión y discusión de los temas centrales y resultados del Programa de Manejo y Monitoreo de Mareas Rojas durante el periodo 2006-2019 con la participación de representantes de diversos sectores vinculados al tema de floraciones algales nocivas, tanto del sector público como privado, además de académicos e investigadores de diferentes universidades y centros de investigación, incluyendo investigadores y técnicos del grupo de trabajo del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) del Instituto de Fomento Pesquero.

El seminario contó con dos bloques de presentaciones a cargo de investigadores del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP); cada presentación fue de 15 minutos, y cada cinco presentaciones se dispuso un tiempo de 15 minutos para consultas y comentarios. Previo al inicio y al cierre se entregaron palabras ligadas al estudio, su importancia y proyecciones.



5. RESULTADOS Y DISCUSI3N

Aspectos generales.

De manera similar a lo realizado en etapas previas, los resultados obtenidos en la etapa XII se analizan de manera general y descriptivamente. Los datos de esta etapa se entregan por subprograma, regi3n administrativa, crucero y estaci3n de muestreo. Para cada sub-programa los antecedentes que se incluyen en la base de datos es la siguiente:

a) Sub-Programa Monitoreo Regular:

Para las tres regiones administrativas se entrega la informaci3n recolectada desde el 1er crucero hasta el 11o crucero (Base de datos 1 en el CD). En la base de datos se incluye un archivo por subprograma y regi3n administrativa con las fechas de muestreo, organizadas por localidad y crucero.

b) Sub-Programa Vigilancia y Fiscalizaci3n:

Se entrega la informaci3n disponible desde el 1er crucero hasta el 31er crucero (Base de datos 1 en el CD). En la base de datos se incluye un archivo por sub-programa y regi3n administrativa con las fechas de muestreo, organizadas por localidad y crucero.

c) Sub-Programa Ra3l Mar3n Balmaceda:

Se entrega la informaci3n disponible desde el 1er crucero hasta el 31er crucero (Base de datos 1 en el CD). En la base de datos se incluye un archivo por subprograma y regi3n administrativa con las fechas de muestreo, organizadas por localidad y crucero.

5.1. Objetivo espec3fico 1:

1. Conocer la abundancia y distribuci3n espacio temporal de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, en la red de estaciones de monitoreo antes citada.

Los resultados asociados a este objetivo corresponden a los valores cuantitativos en el caso de VPM y VAM, y valores cualitativos, los cuales indican la positivos o negativos, para el caso del VDM.

Distribuci3n de toxinas en la macroregi3n sur-austral, Etapa XII.

Toxina VPM.

La regi3n de Ays3n, fue la que present3 el mayor rango de toxicidades por sobre el l3mite normativo ($80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), que fue $81\text{-}5.453 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ por VPM (Fig. 5.1.1). El 90% (N=57) de las estaciones monitoreadas (N=63) estuvieron dentro de este rango. El VPM alcanz3 niveles de toxicidad $>1000 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ en gran parte de la regi3n de Ays3n, entre los meses de marzo y mayo de 2018. El nivel m3ximo de toxicidad ($5.453 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) ocurri3 en la estaci3n A50



(Tronador). Los niveles subtxicos (<80 µg STX eq. 100 g⁻¹), afectaron al 69% (N=44) de las estaciones y ocurri3 con mayor frecuencia dentro del periodo de julio 2018 y febrero de 2019.

En el caso de la regi3n de Los Lagos, los niveles m1ximos de toxicidad por VPM alcanzaron niveles entre 85 y 200 µg STX Eq. 100 g⁻¹, afectando el 16% del total de estaciones monitoreadas (N=37). Las estaciones afectadas se localizan en el sector Chilo3 sur y fueron: L22, L22N1-3, L23, L23N2, L24 y L24N1 (B. Asasao, Ens. Quilanlar, Inio, I. Redonda, I. San Pedro, I. San Pedro 2, I. Guapiquil1n y I. Guapiquil1n 2, respectivamente). Estos mayores niveles de toxicidad, ocurrieron en los meses de mayo 2018 (56% de las toxicidades), julio-agosto (40% de las toxicidades) y en diciembre (4% de las toxicidades). Los niveles subtxicos (<80 µg STX Eq. 100 g⁻¹) ocurrieron en las mismas estaciones en que se detectaron los mayores niveles de toxicidad por VPM, pero sum1ndose a este grupo, las estaciones L16, L19 y L19N1 (I. Chaull1n, Pta. Chiguao y Yelcho, respectivamente). Las mayores frecuencias de los niveles subtxicos, ocurrieron en el invierno (42% de las toxicidades), *i.e.* entre los meses de julio y septiembre 2018, y en primavera (33% de las toxicidades), *i.e.* entre los meses de octubre y diciembre. En verano (enero-febrero 2019) y otxo (marzo-mayo), las frecuencias de estos niveles de toxicidad fueron s3lo de un 11 y 15% de las toxicidades registradas, respectivamente.

En la regi3n de Magallanes, los niveles de toxicidad por VPM predominantes durante el periodo monitoreo etapa XII fue de “**No Detectable**” (ND). El rango m1ximo de toxicidad fue 86 - 204 µg STX Eq. 100 g⁻¹d, y ocurrieron entre los meses de marzo y julio 2018, y en solo 2 estaciones (3% de las estaciones monitoreadas, N=71). Estas estaciones fueron: M04 y M05, C. Adalberto y B. Liberta, respectivamente. Los niveles subtxicos (<80 µg STX Eq. 100 g⁻¹), ocurrieron en un 40% de los sitios monitoreados. De estos sitios, 18 se localizaron en el sector norte, 2 en el centro y 9 en el sur, en los meses de primavera-verano, *i.e.* periodos septiembre- diciembre 2018, y enero-febrero 2019, meses en los que se concentr3 el 62% de los niveles subtxicos registrados.

Toxinas Lipof1licas.

La distribuci3n de las toxinas lipof1licas (VDM por bioensayo rat3n) durante el periodo de monitoreo, fue positiva en las 3 regiones que conforman la macrozona sur-austral de Chile (Fig.5.1.2). No obstante que la figura 1.2 muestra una distribuci3n geogr1fica relativamente homog3nea de la toxina, la frecuencia de toxinas lipof1licas positivamente detectadas por estaci3n, fue muy diferente.

La regi3n de Ays3n, present3 un 51% (N=32) del total de estaciones monitoreadas, con una frecuencia de toxina positiva >50% de las veces en que fueron muestreadas, *i.e.* de un total de 11 cruceros de monitoreo. Estas estaciones est1n distribuidas principalmente en Ays3n continental norte, iniciando en el canal Jacaf, en cuyo interior tambi3n se encontr3 distribuida, continuando por la costa continental hasta cubrir el sector sur de la regi3n. En la costa de Ays3n insular, tambi3n destacaron las estaciones A33, A37, A39, A40 y A51 (I. Concoto, I. Teresa, Pto. Lampazo, I. Silachilu y C. Vicu1a, respectivamente), con registros positivos de toxina lipof1lica >50% de las visitas, de un total de 11 visitas realizadas a estas localidades. El rango de frecuencias de las estaciones con registros positivos fue entre 55 y 82%.



La regi3n de Magallanes, present3 16 estaciones (22% del total de estaciones monitoreadas) con una frecuencia de registro positivo a toxinas lipof3licas >50% del total de cruceros realizados (=11). Seis de estas estaciones, se localizan en el sector norte, 9 en el sector centro y 1 en el sector sur (M43, B. Yendegaia). El rango de porcentajes de frecuencia: 55-64%, fue menor al de la regi3n de Ays3n.

Para la regi3n de Los Lagos, el rango de frecuencia de estaciones con registros positivos a toxina lipof3licas fue solo de 27-36% y se distribuy3 en el 10% (N=4) de las estaciones monitoreadas (N=37). Estas estaciones fueron: L04N3, L06, L07 y L10 (Chayahu3, Hueihue, C. Caucahu3 y Ayacara, respectivamente), todas situadas en el sector norte de la regi3n.

Toxina VAM.

Durante el periodo de monitoreo marzo 20018-febrero 2019, los niveles de detecci3n de VAM fueron no detectables (ND) para las tres regiones (Fig.5.1.3) de la macrozona sur-austral de Chile.

5.2. Objetivos Espec3ficos 2 y 3:

2. Conocer la abundancia y distribuci3n espacio temporal de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, en la red de estaciones de monitoreo antes citada.

An3lisis descriptivo de la Abundancia Relativa de la especie *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii* para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes.

***Alexandrium catenella*.**

Para la zona de Los Lagos Norte no se registraron floraciones de *A. catenella* durante todo el periodo de estudio. Salvo peque1as detecciones de la microalga en los sectores de Chayahu3 (L04N3), Quetalmahue (L05) y Pichicolo (L06N3) durante el periodo de septiembre del 2018 y enero de 2019 las cuales alcanzaron niveles de AR de 2 (escaso), no se encuentran otros registros de presencia de la microalga en la mayor3a de las estaciones de muestreo (Fig. 5.2.2 g-j).

Misma situaci3n se presenta en las estaciones de monitoreo ubicadas en el sector de Los Lagos Centro donde no se detectaron floraciones durante todo el periodo de estudio. S3lo se detect3 presencia de la microalga en algunas estaciones puntuales durante el periodo comprendido entre el 7 de agosto y el 18 de octubre con valores que no superaron el nivel 2 (escaso) en las siguientes estaciones: L07 - C. Caucahu3, y L09N1 I. Butachauques 2 (Fig.5.2.2 g).

La zona de Los Lagos Sur es la 3nica que presenta niveles medios de AR en el periodo de diciembre del 2018 a enero del 2019 alcanzando valores de 5 (muy abundante) en el extremo sur de la isla (Fig. 5.2.2 i-j). Sin embargo, esta peque1a floraci3n se restringe solo a este periodo no present3ndose valores de abundancias altas durante el resto del verano.



Situaci3n completamente distinta a la anterior es la que se observ3 en la regi3n de Ays3n, donde las floraciones de *A. catenella* tuvieron una amplia cobertura y duraci3n. La zona de Ays3n Norte sigui3 con niveles medio-altos de AR hasta el mes de mayo del 2018 (Fig. 5.2.1 a-c), derivado de una fuerte floraci3n que afect3 la zona desde el mes de diciembre del 2017 la cual alcanz3 el nivel m3ximo (9, mega abundante) en gran parte de las estaciones de muestreo, extendi3ndose hasta el mes de mayo donde a3n presentaba nivel 7 (hiper abundante) en varias estaciones de monitoreo como I. Silachilu (A40), C. Ninualac (A41) el I. James (A41N1). Luego comienza una etapa de decaimiento de la floraci3n durante el periodo oto3o-invierno, no obstante, siempre hubo presencia de la microalga durante todo este periodo con valores que no superaban el nivel 3 (regular). Una nueva floraci3n comienza en el mes de diciembre de 2018 pero de mucho menor intensidad y duraci3n que la del verano 2017-2018, terminando en enero del 2019 y alcanzando como m3ximo nivel 5 (muy abundante) (Fig. 5.2.3. i-k). Cabe destacar que estas floraciones se extendieron de forma homog3nea por toda la zona Norte de Ays3n, no registr3ndose concentraciones de la microalga en sectores espec3ficos de esta zona.

Similar situaci3n ocurri3 en la zona sur de Ays3n, aunque con una intensidad mucho mayor que la reportada en la zona de Ays3n norte, donde la floraci3n comenzada en diciembre del 2017 se extendi3 hasta mayo del 2018, mes en el cual a3n se encontraban niveles de AR de 7 (hiper abundante), alcanzando un peak en marzo del 2018 donde encontramos niveles elevados de la microalga (nivel 8, ultra abundante) (Fig. 5.2.1 a-c). Luego de este periodo los niveles de AR comienzan a decaer (periodo junio-septiembre) manteni3ndose en valores de AR bajos (pero con presencia permanente) hasta octubre del 2018 donde nuevamente las abundancias comienzan a incrementar hasta alcanzar su peak en enero del 2019 alcanzando rangos con valores entre 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante), valores m3s bajos a los registrados en el periodo de enero-marzo del 2018.

Para la zona de Tortel no se observaron floraciones de *A. catenella* durante todo el periodo de estudio, manteni3ndose durante todo el a3o en rangos entre 0 (ausente) y 3 (regular), salvo los meses de noviembre y diciembre del 2018 donde los estimadores de AR alcanzaron nivel 4 (abundante) en dos estaciones (Fig. 5.2.3 h-i).

La zona norte de Magallanes se mantuvo con valores bajos de AR de la microalga *A. catenella* durante gran parte del periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 con valores que no superaron el nivel 3 (regular).

Se observ3 una peque3a floraci3n de poca intensidad y duraci3n durante el mes de octubre y del 2019 con un peak que alcanz3 nivel 6 (extremadamente abundante) en la estaci3n M09-E. Peng3in (Fig. 5.2.2.g).

En cuanto a la zona de Magallanes Centro, no se observan floraciones de *A. catenella* durante todo el a3o, solo se puede observar presencia de la microalga con valores muy bajos durante todo el periodo de monitoreo, los cuales oscilaron entre 0 (ausente) y 3 (regular) en un porcentaje muy bajo del total



de estaciones de monitoreo en la zona, siendo el mes de diciembre el que present3 un mayor n3mero de estaciones con nivel 3 (regular) (Figs. 5.2.1- 5.2.3 a-k).

La zona de Magallanes Sur present3 dos peque1os eventos de floraci3n de corta duraci3n al igual que las otras dos zonas de Magallanes el cual se desarroll3 en el periodo de octubre (Fig. 5.2.2 g) y otra en el periodo de diciembre (Fig. 5.2.3 i), ambas caracterizadas por presentar valores medios de AR los cuales alcanzaron solo hasta nivel 5 (muy abundante). El resto del periodo de estudio los niveles de AR se mantuvieron bajos, con valores que oscilaron entre 0 (ausente) y 2 (escaso).

***Alexandrium ostenfeldii*.**

Para la zona de Los Lagos norte no se registraron grandes floraciones de *A. ostenfeldii* durante todo el periodo de estudio comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019, sin embargo, hubo detecci3n de la microalga durante toda la etapa de estudio principalmente durante los meses de mayo a julio (cruceros 3 y 4) donde algunas estaciones alcanzaron niveles de AR entre 5 (muy abundante) y 6 (extremadamente abundante) siendo las estaciones Sotom3 (L02N1) y Potrerillos (L03N1) las que presentaron los mayores niveles de AR. El resto del periodo de estudio los niveles de AR se mantuvieron bajos los cuales no superaron el nivel 3 (regular) en la mayor3a de las estaciones (Fig. 5.2.1c; 5.2.2d).

Al igual que la zona Norte, en la zona de Los Lagos Centro se observ3 la presencia de la microalga durante todo el periodo de muestreo con valores bajos de AR que oscilaron entre 1 (raro) y 3 (regular) durante la mayor parte de la etapa, salvo en el periodo de febrero (crucero 11) donde los estimadores de AR alcanzaron valores de 4 (abundante) y 5 (muy abundante) en las estaciones C. Dalcahue (L11), I. Chaulinec 2 (L13N1) e I. Talc3n (L14) (Fig. 5.2.3k).

Para la zona de Los Lagos Sur se observa la presencia de la microalga durante todo el periodo de estudio, presentando valores bajos durante la mayor parte de la etapa, con dos peque1os aumentos en los niveles de AR, el primero en el periodo julio-agosto del 2018 (Fig. 5.2.2e) alcanzando un peak de AR de 6 (extremadamente abundante) en la estaci3n G. Corcovado 2 (L19N4). Tamb3n se aprecia un aumento en los niveles de AR durante el periodo entre diciembre del 2018 y febrero del 2019, el cual presenta valores medios de AR que oscilan entre 3 (regular) y 5 (muy abundante) alcanzando un valor m3ximo durante el mes de febrero en la estaci3n L17N1 (E. Palvitad) donde alcanz3 un valor de 7 (hiper abundante).

Para las estaciones ubicadas en la zona de Ays3n se observa una situaci3n bastante similar a la descrita para la regi3n de Los Lagos.

En la zona de Ays3n Norte se observ3 la presencia de la microalga durante toda la etapa con valores bajos que en promedio no superan el nivel 3 (regular). Durante el periodo de junio-julio del 2018 se observa un leve aumento en los niveles de AR en tres estaciones puntuales: A06 (Laja Brazo Pill3n), A19 (S. Magdalena) y A19N1 (S. Ventisquero 1) alcanzando AR entre nivel 6 (extremadamente abundante) 7 (hiper abundante) (Fig. 5.2.2d). Un segundo aumento leve (aunque de una extensi3n



temporal mayor) se observ3 en el periodo entre diciembre del 2018 a febrero del 2019 el cual se caracteriz3 por presentar niveles medios de AR en la mayor3a de las estaciones los cuales oscilaron entre nivel 3 (regular) y 4 (abundante) alcanzando un nivel m3ximo de 6 (extremadamente abundante) en febrero del 2019 en la estacionen A04N1 (Canal Moraleda 1) (Fig. 5.2.3k).

Similar situaci3n ocurri3 en la zona Sur de Ays3n, donde se detecta la presencia *A. ostenfeldii* durante todo el periodo de monitoreo, aunque con una intensidad menor que en la zona Norte de Ays3n sobre todo en el periodo entre marzo – agosto del 2018 (Fig. 5.2.1a-c; 5.2.2 d-e) donde en promedio los niveles de AR no superaron el nivel 3 (regular). Durante el mes de octubre se aprecia un leve aumento en la AR en la mayor3a de las estaciones de la zona de Ays3n Sur, aunque los niveles m3ximos que se registraron fueron de 4 (abundante) para mantenerse con niveles bajos-medios de AR durante el resto del periodo de muestreo (noviembre 2018 – febrero 2019) los cuales oscilan entre 2 (escaso) y 4 (abundante).

Para la zona de Tortel no se observaron grandes floraciones de *A. ostenfeldii* durante todo el periodo de estudio, manteni3ndose durante todo el a3o en rangos medios entre 2 (escaso) y 4 (abundante), con excepci3n del mes de enero del 2019 donde los estimadores de AR alcanzaron nivel 6 (extremadamente abundante) en la estaci3n A62 (Iste. Porvenir) (Fig. 5.2.3k).

La zona norte de Magallanes se mantuvo con valores bajos de AR de la microalga *A. ostenfeldii* durante gran parte del periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 con valores que no superaron el nivel 3 (regular). Sin embargo, se observ3 un leve aumento en el periodo de septiembre del 2018, lo que result3 en una intensa floraci3n, pero de poca duraci3n en el mes de octubre (Fig. 5.2.2g) con un peak que alcanz3 nivel 8 (ultra abundante) en las estaciones M06N3 (P. Mancilla) y M06N4 (I. Carlos Norte).

En cuanto a la zona de Magallanes Centro, no se observan floraciones de *A. ostenfeldii* durante todo el a3o, solo se puede observar presencia de la microalga con valores muy bajos durante el periodo septiembre – octubre 2018 con valores bajos de AR los cuales oscilaron entre 0 (ausente) y 3 (regular) (Fig. 5.2.2. f-g) no detect3ndose la presencia de la microalga durante el resto del a3o o con detecciones espor3dicas en estaciones puntuales que no superan el nivel 1 (raro).

La zona de Magallanes Sur present3 un peque3o evento de floraci3n en el periodo de octubre, caracterizado por presentar valores medios de AR los cuales alcanzaron nivel 5 (muy abundante) (Fig. 5.2.2g). El resto del periodo de estudio los niveles de AR se mantuvieron bajos, con valores que no superaron el nivel 1 (raro) o simplemente con ausencia de la microalga (periodo marzo – julio y meses de diciembre y enero).



Análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de las especies *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta* y *Protoceratium reticulatum* para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

Dinophysis acuminata.

El dinoflagelado productor de toxinas lipofílicas *D. acuminata* se detectó en las 3 regiones monitoreadas durante la etapa XII (Figs. 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6). Se observó un claro patrón latitudinal respecto de su abundancia cualitativa. La Región de Los Lagos presentó las mayores abundancias con una progresiva disminución hacia la zona sur (Figs. 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6). Los máximos valores cualitativos alcanzaron la escala 9 y 9+ en Los Lagos y Aysén (Figs. 5.2.4, 5.2.5), mientras que en Magallanes sólo alcanzó abundancia relativa 6 (Figs. 5.2.4, 5.2.5). En detalle, desde abril a julio se observó la mayor abundancia de este dinoflagelado en la Región de Los Lagos (Figs. 5.2.4, 5.2.5). Mientras que la mayor abundancia relativa se observó entre marzo y mayo, y entre octubre y diciembre, en las Regiones de Aysén y Magallanes, respectivamente (Figs. 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6).

Dinophysis acuta.

El dinoflagelado *Dinophysis acuta* presentó un patrón de distribución geográfico restringido a la Región de Aysén (Figs. 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6). En la Región de Los Lagos, esta especie solo fue detectada en el sur de la Isla de Chiloé, mientras que en Magallanes solo se detectó en algunas estaciones de la zona norte de esta región (Figs. 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6). En detalle, la máxima abundancia relativa detectada en la Región de los Lagos (Chiloé sur) ocurrió entre abril y julio de 2018, la cual correspondió a nivel 1 de la escala de abundancia relativa (Figs. 5.2.4, 5.2.5). Mientras que para la región de Magallanes la abundancia relativa alcanzó un nivel 2 entre los meses de marzo y abril. Por otra parte, la región de Aysén presentó niveles de abundancia relativa máxima 9 entre los meses de marzo y mayo. Consecuentemente, entre junio y agosto las máximas llegan a nivel 5, y entre septiembre y octubre las máximas alcanzaron nivel relativo 3 (Fig. 5.2.4, 5.2.5). Finalmente, en enero del 2019 nuevamente se observan niveles de abundancia relativa de 9 en esta región (Fig. 5.2.6).

Protoceratium reticulatum.

El dinoflagelado productor de Yesotoxinas *P. reticulatum*, presentó un patrón de distribución biogeográfico restringido a la Región de Aysén, aunque también se detecta su presencia en las Regiones de Los Lagos y Magallanes (Figs. 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6). En la Región de Aysén entre los meses de marzo y mayo las máximas abundancias relativas alcanzaron los niveles 6 y 7, y de forma excepcional el nivel 8 en una estación (Fig. 5.2.4). Entre junio y agosto (Fig. 5.2.5) la abundancia relativa disminuyó sustantivamente en la región observándose valores entre 1 y 5 (Fig. 5.2.5). Consecuentemente, para los meses de septiembre, octubre, noviembre y diciembre se observaron en general valores de 1 y 2 (Figs. 5.2.5, 5.2.6). No obstante, en enero y febrero del 2019 se observó nuevamente un progresivo incremento de la abundancia relativa en algunas estaciones alcanzando valores máximos de 7 (Fig. 5.2.6). Por otra parte, para la región de los lagos se observaron niveles entre 1 y 3 en algunas estaciones entre marzo y mayo (Fig. 5.2.4). Entre julio y octubre, en Chiloé Norte se observaron valores de 3 en un par de estaciones, mientras que en el resto no se registró la presencia de la especie o se alcanzó valores máximos de 2 (Fig. 5.2.5). Entre noviembre y enero del 2019 los valores máximos de abundancia relativa fueron de 2 en algunas estaciones, mientras que



para febrero la abundancia relativa incremento en algunas localidades observándose valores máximos de 4 (Fig. 5.2.6). Finalmente, para la región de Magallanes, entre marzo y mayo se observaron niveles 3 de abundancia relativa en algunas estaciones del sector norte, no obstante valores de 0 y 1 fueron recurrentes en la mayoría de las estaciones (Fig. 5.2.4). Entre junio y diciembre los valores de abundancia relativa fueron preferentemente de 0 y de forma excepcional se observaron valores de 1 (Figs. 5.2.5, 5.2.6). En enero del 2019 se observó en una estación una abundancia relativa de 2, y consecuentemente en febrero se observó un incremento de la abundancia alcanzando valores de 5 en algunas estaciones.

Análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de las especies *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

Pseudo-nitzschia cf. australis.

Esta diatomea se encuentra presente tanto en la región de Los Lagos, Aysén y Magallanes, durante toda la etapa XII (marzo 2018 – febrero 2019). Sin embargo, existe una diferencia latitudinal y temporal, con una mayor presencia entre las regiones de Los Lagos y Aysén, y en menor escala, para la región de Magallanes (Figs. 5.2.7, 5.2.8, 5.2.9).

Entre el 21 de marzo al 03 de mayo 2019 (crucero 1), se observaron abundancias relativas entre 0 a 7 en la región de Los Lagos, con mayor dominancia en el área norte de esta región. En la región de Aysén, las abundancias relativas fluctuaron entre 0 a 7, donde en el área norte, el 25% de las estaciones presentó una AR=0, un 57,1% AR=1-4, y sólo un 17,9% AR=5-7. En el área sur (42 estaciones), sólo un 2,4% de las estaciones presentó una AR=0, y un 69% AR=1-4 y un 19% AR=5-6. Para la zona de Tortel, no hubo presencia de esta especie. Para la región de Magallanes, los rangos de AR fueron entre 0-5, dominando en el área norte, centro y sur de la región, la ausencia de esta especie (AR=0), con un 71,8%, 83,9% y 70% respectivamente (Fig. 5.2.7 a).

Entre el 16 de abril al 03 de junio 2019 (crucero 2), la región de Los Lagos presentó en el área norte, centro y sur, estimadores de AR entre 1 a 4, abarcando hasta un 88,9% de cobertura con este rango. Para la región de Aysén, los estimadores de AR fueron más altos, concentrando en más del 60% de sus estaciones rangos entre los 5 a 7. En la región de Magallanes (norte, centro y sur), entre el 80 a 100% de sus estaciones no estuvo presente esta diatomea (AR=0) (Fig. 5.2.7 b)

Entre el 17 de mayo al 05 de julio 2019 (crucero 3), la región de Los Lagos (norte), presentó en más del 50% de sus estaciones, estimadores de AR=0. Sin embargo, esta condición cambió en el área centro y sur de la región, donde *P. cf. australis*, alcanzó mayoritariamente un rango de abundancias entre 1-4, con una cobertura de un 83,3 y 76,9% respectivamente. Para la región de Aysén, los estimadores de AR más altos (entre 5 a 8) concentraron gran parte de las estaciones del área norte, alcanzando hasta un 89,3% de las estaciones. No obstante, en la región de Magallanes, los



estimadores de AR son bajos, presentando casi en la totalidad de las estaciones de la zona centro y sur, la ausencia de esta microalga (AR=0) (Fig. 5.2.7 c).

Entre el 17 de junio al 30 de julio 2019 (crucero 4), la regi3n de Los Lagos, present3 en el 1rea norte, centro y sur, estimadores de AR entre 1 a 4, abarcando hasta un 92,3% de sus estaciones con este rango (1rea sur). Para la regi3n de Ays3n, los estimadores de AR m1s altos (entre 5-8), presentaron una mayor cobertura geogr1fica en el 1rea norte (67,9%) que en el 1rea sur de esta regi3n. En Magallanes, el 1rea norte presenta estimadores de AR entre 1 a 4 (69,2%). Esta condici3n var1a en el 1rea centro-sur de la regi3n, donde entre el 80 al 100% de sus estaciones no presenta esta microalga (AR=0) (Fig. 5.2.8 d) .

Entre el 26 de julio al 02 de septiembre 2019 (crucero 5), se observ3 que tanto para la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), Ays3n (norte y sur) y Magallanes (norte y sur), los estimadores de AR fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando hasta un 100% de cobertura en estaciones ubicadas en la regi3n de Los Lagos (1rea sur). Sin embargo, el 1rea centro de la regi3n de Magallanes, present3 en un 93% de sus estaciones una AR=0 (Fig. 5.2.8 e)

Entre el 02 de septiembre al 02 de octubre 2019 (crucero 6), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), Ays3n (norte y sur) y Magallanes (norte, centro y sur), los estimadores de AR fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando un 60% de cobertura en estaciones de Magallanes norte hasta un 100% de las estaciones en el 1rea centro de la regi3n de Los Lagos (Fig. 5.2.8 f) .

Entre el 06 al 27 de octubre 2019 (crucero 7), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (norte y centro), los estimadores de AR fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando hasta un 91,7% de cobertura en el 1rea centro de la regi3n. En la regi3n de Ays3n, el 1rea norte presenta estimadores de AR entre 5 a 8 (56%), y en el 1rea sur, coberturas similares (50%) para estimadores de abundancia entre 1-4 y 5-8. Para Magallanes, el 97% de las estaciones correspondientes al 1rea norte, presentaron estimadores de AR entre 5-8, disminuyendo para el 1rea centro y sur (Fig. 5.2.8 g) .

Entre el 03 al 27 de noviembre 2019 (crucero 8), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), los estimadores de AR fluctuaron principalmente entre 1-4, con coberturas similares para las tres 1reas (50 a 58%). En la regi3n de Ays3n, el 1rea norte present3 estimadores de AR entre 1-4 (57,1%), mientras que el 100% de las estaciones del 1rea sur, presentaron un estimador mayor de AR (5-8). La regi3n de Magallanes present3 para sus tres 1reas, mayor cobertura de estaciones donde los estimadores de AR fueron entre 1-4 (Fig. 5.2.9 h).

Entre el 05 al 28 de diciembre 2019 (crucero 9), se observ3 que, en la regi3n de Los Lagos, tanto el 1rea norte y centro, presentaron una mayor cobertura con estimadores de AR entre 1-4, alcanzando hasta un 83% de las estaciones pertenecientes al 1rea centro. Sin embargo, para el 1rea sur de esta regi3n, los estimadores que dominaron en un 78,6% de sus estaciones fueron entre 5-8. Para la regi3n de Ays3n, los estimadores de AR fueron aumentando desde el 1rea norte a sur, alcanzando en esta 1ltima, una cobertura de 66,7% con estimadores de AR entre 5-8 (Fig. 5.2.9 i).



Entre el 03 al 28 de enero 2019 (crucero 10), se observ3 que tanto para la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), Ays3n (norte y sur) y Magallanes (norte y sur), los estimadores de abundancia relativa fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando hasta un 80% de cobertura en estaciones ubicadas en la regi3n de Magallanes (sur) (Fig. 5.2.9 j).

Entre el 06 al 28 de febrero 2019 (crucero 11), se observ3 que tanto para la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), Ays3n (sur) y Magallanes (norte y sur), los estimadores de AR fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando hasta un 85,7% de cobertura en estaciones ubicadas en la regi3n de Ays3n (3rea norte). Sin embargo, en el 3rea sur de esta regi3n, se observ3 un incremento de este estimador (5-8), abarcando en casi un 80% de sus estaciones (Fig. 5.2.9 k).

Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima.

Esta diatomea se encuentra presente tanto en la regi3n de Los Lagos, Ays3n y Magallanes, durante toda la etapa XII (marzo 2018 – febrero 2019). Sin embargo, existe una diferencia latitudinal y temporal, con una mayor presencia entre las regiones de Los Lagos y Ays3n, y en menor escala, para la regi3n de Magallanes (Figs. 5.2.7; 5.2.8; 5.2.9).

Entre el 21 de marzo al 03 de mayo 2019 (crucero 1), se observ3 que para la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), los estimadores de AR con mayor dominancia fueron entre 1-4. En la regi3n de Ays3n, los estimadores de AR fueron m3s altos, donde un 60,7% de las estaciones del 3rea norte presentaron una AR=9. Este estimador disminuy3 en el 3rea sur de la regi3n, donde un 76,2% de las sus estaciones presentaron un rango de AR=5-8. Contrariamente, en la regi3n de Magallanes, la mayor3a de las estaciones comprendidas entre el 3rea norte y centro presentaron un estimador de AR=0, aumentando levemente hacia el 3rea sur de la regi3n (Fig. 5.2.7 a).

Entre el 16 de abril al 03 de junio 2019 (crucero 2), la regi3n de Los Lagos present3 en el 3rea norte y sur, estimadores de AR entre 1 a 4, abarcando un 83,3% y un 92,3% respectivamente. En la regi3n de Ays3n, los estimadores de AR fueron m3s altos, donde un 46,4% de las estaciones del 3rea norte presentaron una AR=9. Este estimador disminuy3 en el 3rea sur de la regi3n, donde un 69% de sus estaciones presentaron un rango de AR=5-8. Contrariamente, en la regi3n de Magallanes, la mayor3a de las estaciones comprendidas entre el 3rea norte y centro presentaron un estimador de AR=0, (especie ausente), aumentando levemente hacia el 3rea sur de la regi3n (Fig. 5.2.7 b)

Entre el 17 de mayo al 05 de julio 2019 (crucero 3), la regi3n de Los Lagos present3 en su 3rea norte un mayor n3mero de estaciones donde esta especie no estuvo presente (>50%; AR=0). Sin embargo, esta condici3n cambio en el 3rea centro y sur de la regi3n, donde *P. cf. australis*, alcanz3 mayoritariamente un rango de abundancias entre 1-4, con una cobertura espacial entre un 83,3 y 76,9% respectivamente. Para la regi3n de Ays3n, los estimadores de abundancia relativa m3s altos (entre 5 a 8) concentraron gran parte de las estaciones del 3rea norte, alcanzando hasta un 89,3% de las estaciones. No obstante, en la regi3n de Magallanes, el 70% de las estaciones comprendidas entre el 3rea norte y centro presentaron un estimador de AR=0, aumentando la presencia de esta diatomea hacia el 3rea sur de la regi3n (Fig. 5.2.7 c).



Entre el 17 de junio al 30 de julio 2019 (crucero 4), la regi3n de Los Lagos, present3 en el 1rea norte, centro y sur, estimadores de abundancias relativas entre 1 a 4, abarcando hasta un 91,6% de sus estaciones con este rango (1rea centro). Para la regi3n de Ays3n, los estimadores de abundancia relativa fueron m1s altos que en la regi3n de Los Lagos, concentrando en un 64% de las estaciones presentes en el 1rea norte, estimadores de AR entre 5-8, y en el 1rea sur, un 42% de las estaciones present3 estimadores de AR entre 5-8, y un 16% estimadores de AR=9. Para la regi3n de Magallanes, hasta un 87% de las estaciones comprendidas entre el 1rea norte y centro presentaron un estimador de AR=0 (especie ausente), aumentando la presencia de esta diatomea en estaciones ubicadas al sur de la regi3n (Fig. 5.2.8 d) .

Entre el 26 de julio al 02 de septiembre 2019 (crucero 5), se observ3 para la regi3n de Los Lagos (1rea norte, centro y sur) los estimadores de AR se mantienen preferentemente entre 1-4 en la mayor1a de las estaciones. Para la regi3n de Ays3n, se observ3 una disminuci3n de los estimadores con respecto a los cruceros anteriores, presentando en casi un 90% de las estaciones del 1rea norte y sur estimadores entre 1-4. Sin embargo, la condici3n para la regi3n de Magallanes se mantiene con estimadores de AR=0 en la mayor1a de las estaciones del 1rea norte, centro y sur (Fig. 5.2.8 e)

Entre el 02 de septiembre al 02 de octubre 2019 (crucero 6), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (1rea norte, centro y sur) los estimadores de AR se mantienen preferentemente entre 1-4 en la mayor1a de las estaciones, concentrando hasta un 78% de las estaciones del 1rea sur con este estimador. En la regi3n de Ays3n se observ3 un comportamiento similar al crucero 5, donde m1s del 90% de las estaciones del 1rea norte y sur de la regi3n present3 un estimador de AR entre 1-4. En la regi3n de Magallanes (1rea norte), se mantienen los estimadores de AR=0 en la mayor1a de las estaciones. Sin embargo, esta condici3n var1a hacia la zona centro-sur de la regi3n, donde los estimadores de AR alcanzan rangos entre 1-4 (Fig. 5.2.8 f).

Entre el 06 al 27 de octubre 2019 (crucero 7), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (1rea norte, centro y sur), los estimadores de abundancia relativa fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando hasta un 83 % de cobertura en el 1rea centro de la regi3n. En la regi3n de Ays3n, el 1rea norte y sur present3 estimadores de AR entre 1-4 en la mayor1a de las estaciones. En la regi3n de Magallanes, se observ3 un aumento en los estimadores de AR en todas las 1reas (norte, centro y sur) (Fig. 5.2.8 g).

Entre el 03 al 27 de noviembre 2019 (crucero 8), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (1rea norte y sur), los estimadores de AR fluctuaron principalmente entre 1-4, y el 1rea centro, un 91% de las estaciones presentaron estimadores de AR entre 5-8. En la regi3n de Ays3n, se observ3 un aumento de los estimadores de AR, tanto en el 1rea norte y sur, presentando casi en un 80% de las estaciones, estimadores de AR entre 5-8. En la regi3n de Magallanes, el 1rea norte present3 en casi el 60% de sus estaciones, estimadores de AR entre 5-8, mientras que el 1rea centro y sur, estimadores entre 1-4 en la mayor1a de sus estaciones (Fig. 5.2.9 h).

Entre el 05 al 28 de diciembre 2019 (crucero 9), se observ3 que en la regi3n de Los Lagos (norte, centro y sur), los estimadores de abundancia relativa fluctuaron principalmente entre 1-4, alcanzando



hasta un 88 % de cobertura en el 1rea centro de la regi3n. En la regi3n de Ays3n (sur), se observaron estimadores de AR m1s altos (entre 5- 9) en el 84% de sus estaciones. En la regi3n de Magallanes (norte, centro y sur), la mayor1a de estaciones presentaron estimadores de AR entre 1-4 (Fig. 5.2.9 i).

Entre el 03 al 28 de enero 2019 (crucero 10), se observ3 para la regi3n de Los Lagos (norte, centro) estimadores de AR entre 5-8 en casi el 100% de sus estaciones. En la regi3n de Ays3n (sur), se observaron estimadores de AR m1s altos (entre 5- 9) en casi el 90% de sus estaciones. Para Magallanes (norte, centro y sur), entre el 60 a 80% de las estaciones, present3 estimadores de AR entre 1-4 (Fig. 5.2.9 j).

Entre el 06 al 28 de febrero 2019 (crucero 11), se observ3 para la regi3n de Los Lagos (centro y sur) estimadores de AR entre 5-8 en m1s del 50% de sus estaciones. En la regi3n de Ays3n, se observ3 un aumento en las estaciones con estimadores de AR entre 5-8. Para Magallanes (norte, centro y sur), entre el 70 a 90% de las estaciones, present3 estimadores de AR entre 1-4 (Fig. 5.2.9 k).

3. Conocer la distribuci3n y abundancia espacio temporal del fitoplancton total en la red de estaciones del estudio.

Configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total durante el periodo marzo de 2018 a febrero de 2019.

En la **Figura 5.3.1** se muestran los resultados del ordenamiento multidimensional (nMDS) de las estaciones y la distribuci3n espacial de los 49 grupos resultantes, permitiendo separarlos para cada una de las tres regiones administrativas con una similitud mayor al 40%. Esta distribuci3n espacial queda conformada de la siguiente forma por cada regi3n: 20 est1n en la regi3n de Los Lagos, 16 en Ays3n y 13 en Magallanes.

En general estos resultados muestran una gran consistencia tanto espacial como en la estructura fitoplanct3nica en los diferentes ensambles formados a partir del an1lisis de conglomerados. Estos ensambles muestran, al igual que en etapas anteriores de este proyecto, que el fitoplancton cuantitativo del 1rea de estudio, desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes, presenta una clara ordenaci3n espacial, con configuraciones propias para cada regi3n de estudio. Este es un resultado relevante, por cuanto est1 mostrando que, para el per1odo de estudio, existe una caracterizaci3n general en el espacio, del micro-fitoplancton que tipifica el sistema de fiordos y canales australes. Esta configuraci3n espacial de los grupos podr1a explicarse por la variabilidad ambiental que se registra en cada una de las regiones y de forma m1s espec1fica a la variabilidad aportada por canales y fiordos, as1 como por zonas m1s oce1nicas del 1rea de estudio. En este sentido, estudios anteriores realizados en IFOP ([Guzm1n et al., 2015](#)) se1alan de que la variabilidad ambiental, espec1ficamente la temperatura de la capa de cinco metros de profundidad puede explicar un 50% de la variabilidad de la composici3n fitoplanct3nica.



Para cada una de las regiones de estudio se aplicó la misma ordenación del fitoplancton total por medio de un escalamiento no dimensional (nMDS). Para la región los Lagos, el análisis de nMDS mostró los resultados de la clasificación disponiendo las estaciones en sus grupos con un coeficiente de estrés de Kruskal de 0,15 (**Figura 5.3.2**). Los grupos de estaciones fueron ubicados de derecha a izquierda, pudiéndose identificar a cuatro grupos de estaciones, cuando se aplica una similitud del 55%, con un grupo compuesto por las estaciones del sector de Chiloé Sur y a una mayor distancia el grupo asociado a las estaciones de Chiloé Norte, específicamente las ubicadas al interior del Fiordo de Reloncaví (L03N1, L02N1, L02, L02N3, L02N4 y L02N2). La estructura de la composición fitoplanctónica, para la región de los Lagos se observa en la **Figura 5.3.3**, donde quedan reflejadas las diferencias, tanto en las especies que la componen como en los niveles de abundancia celular, de cada uno de los grupos de estaciones segregados y presentados en la **Figura 5.3.2**. Se puede observar que, la mayor abundancia celular ($>2,0 \times 10^6$ cél L⁻¹) se registró en la estación de L02N2 ubicada al interior del fiordo de Reloncaví. En general las estaciones ubicadas en este fiordo mostraron valores altos de abundancia comparados con el resto de las estaciones, los que tienden a disminuir en abundancia y a aumentar en el número de especies, a medida que se alejan hacia el sector de Chiloé Sur (**Fig. 5.3.2**). A partir de los análisis de SIMPER se pudo determinar que, al menos 20 especies constituyen >80% de la abundancia fitoplanctónica en la región de los Lagos (**Fig. 5.3.4**). En general, las taxa que más contribuyen al total de la abundancia fitoplanctónica corresponden a *Skeletonema* spp., *Thalassiosira* cf. *minuscule*, *Thalassiosira* spp., *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Pseudo-nitzschia* spp., *Chaetoceros debilis*, *Leptocylindrus minimus*, y *Navicula* spp.

Para la región de Aysén, el análisis de nMDS mostró los resultados de la clasificación disponiendo las estaciones en sus grupos con un coeficiente de estrés de Kruskal de 0,15 (**Fig. 5.3.5**). Los grupos de estaciones fueron ubicados de derecha a izquierda, pudiéndose identificar a cinco grupos de estaciones, cuando se aplica una similitud del 50%, con un grupo compuesto por las estaciones del sector de Aysén Norte (Melinka y Raúl Marín Balmaceda) y a una mayor distancia el grupo asociado a las estaciones de Aysén Sur, específicamente las ubicadas en los sectores del estero Elefante y Tortel. La estructura de la composición fitoplanctónica, para la región de Aysén se observa en la **Fig. 5.3.6**, donde quedan reflejadas las diferencias, tanto en las especies que la componen como en los niveles de abundancia celular, de cada uno de los grupos de estaciones segregados y presentados en la **Fig. 5.3.5**. Se puede observar que, la mayor abundancia celular ($>1,2 \times 10^6$ cél L⁻¹) se registró en la estación de A20 ubicada al interior del fiordo de Puyuhuapi. De manera similar a lo registrado en el fiordo Reloncaví en la región de los Lagos, las estaciones ubicadas en el fiordo Puyuhuapi mostraron valores altos de abundancia y menor número de especies comparados con el resto de las estaciones de la región. A partir de los análisis de SIMPER se pudo determinar que, al menos 20 especies constituyen >85% de la abundancia fitoplanctónica en la región de Aysén (**Fig. 5.3.7**). En general, las taxa que más contribuyen al total de la abundancia fitoplanctónica corresponden a *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp., *Pseudo-nitzschia* cf. *australis*, *Thalassiosira* cf. *minuscule*, *Thalassiosira* spp., *Rhizosolenia setigera*, *Chaetoceros debilis*, *Leptocylindrus minimus* y *Eucampia Zodiaceus*.



Para la regi3n de Magallanes, el an3lisis de nMDS mostr3 los resultados de la clasificaci3n disponiendo las estaciones en sus grupos con un coeficiente de estr3s de Kruskal de 0,20 (**Fig. 5.3.8**). Los grupos de estaciones fueron ubicados de derecha a izquierda, pudi3ndose identificar a cinco grupos de estaciones, cuando se aplica una similitud del 55%, con un grupo compuesto por las estaciones del sector de Magallanes Norte y a una mayor distancia el grupo asociado a las estaciones de Magallanes Sur, espec3ficamente las ubicadas en el canal Beagle y estrecho de Magallanes. La estructura de la composici3n fitoplanct3nica, para la regi3n de Magallanes se observa en la **Fig. 5.3.9**, donde quedan reflejadas las diferencias, tanto en las especies que la componen como en los niveles de abundancia celular, de cada uno de los grupos de estaciones segregador y presentados en la **Fig. 5.3.8**. Se puede observar que, la mayor abundancia celular ($>0,7 \times 10^6$ c3l L⁻¹) se registr3 en la estaci3n de M16N1 ubicada en el sector de Isla Rennel en el sector de Magallanes norte. Es importante destacar que las mayores abundancias celulares registradas en esta estaci3n son tres y dos veces menores que las registradas en las regiones de los Lagos y Ays3n, respectivamente. A partir de los an3lisis de SIMPER se pudo determinar que, al menos 20 especies constituyen >95% de la abundancia fitoplanct3nica en la regi3n de Ays3n (**Fig. 5.3.10**). En general, las taxa que m3s contribuyen al total de la abundancia fitoplanct3nica corresponden a *Diatomeas pennadas*, *Leptocylindrus minimus*, *Chaetoceros debilis*, *Guinardia delicatula*, *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp., *Pseudo-nitzschia* cf. *australis*, *Thalassiosira nitzschiodes*, *Thalassiosira rotula*, *Thalassiosira* cf. *decipens*, *Chaetoceros radicans* y *Eucampia Zodiaceus*.

A partir de estos an3lisis se pudo observar un gradiente norte-sur de este gran sistema de fiordos y canales, con diferencias en especies dominantes, densidades celulares, pero con otras especies como constituyentes constantes comunidad del fitoplancton, tal como las diatomeas *Skeletonema* spp., *Chaetoceros*, *Thalassiosira* y *Pseudo-nitzschia*. En el caso de *Skeletonema* spp., esta presenta un amplio rango de tolerancia para variables como temperatura (eurit3rmica) y salinidad (eurihalina). Se present3, adem3s, con altas contribuciones en zonas estuarinas (ej. estuario de Reloncav3), alcanzando hasta el 90% de la poblaci3n total. En zonas m3s oce3nicas, sus contribuciones son m3s bajas, pero en la mayor3a de las zonas, present3 la mayor contribuci3n al total de la poblaci3n. No obstante, *Skeletonema* spp., en su morfotipo de aguas de baja salinidad sea m3s exitosa en alcanzar altas abundancias, en comparaci3n con su morfotipo de aguas de mayor salinidad.

En general, de las especies de fitoplancton nocivas que se representan entre el 70% de la contribuci3n a la abundancia total, s3lo se encuentran las diatomeas *P. cf. pseudodelicatissima* y *P. cf. australis* que presentan con altas contribuciones a la similitud del ensamble, sin embargo, los dinoflagelados nocivos como, *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, contribuyen en porcentajes muy bajos (<1%) durante esta etapa del proyecto. No obstante que los grupos principales no se alteran mayormente, contin3an segregando estaciones como grupos individuales, aunque en general se advierte que el fitoplancton cuantitativo es distinto en las tres regiones administrativas, distingui3ndose adem3s en cada regi3n claras sectorizaciones que tipifican zonas claramente identificables del 3rea de estudio y propia de cada regi3n administrativa.



5.4. Objetivo Específico 4

Recolectar informaci3n oceanogr3fica (e.g. temperatura, salinidad, nutrientes), y meteorol3gica (e.g. temperatura, nubosidad, viento) en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.

Debido a que este objetivo tiene como principal tarea solo la recolecci3n de informaci3n, tanto los datos oceanogr3ficos como meteorol3gicos, no se analizan en m3s detalle en este informe. Sin embargo, y debido a que en la etapa previa se analizaron los datos correspondientes a nutrientes, en esta oportunidad tambi3n se entrega un peque1o an3lisis descriptivo correspondiente a la etapa XII.

An3lisis general de la base datos de nutrientes entre el 2017 y 2018.

Para la distribuci3n de nutrientes, se consideran importantes los compuestos qu3micos inorg3nicos disueltos de nitrato, fosfato y silicato, donde las concentraciones en el caso de nitrato y fosfato en los primeros metros de la columna de agua, son consumidos por el fitoplancton durante la fotos3ntesis, tambi3n existe un aporte de aguas dulces pobres en nutrientes provenientes de r3os, lluvias y deshielos. Para la concentraci3n de silicatos disueltos en la columna de agua es mayor en aguas continentales y normalmente se halla en exceso con respecto al nitrato y fosfato, como sucede en grandes floraciones de diatomeas y en zona de glaciares.

Para la zona de fiordos y canales del sur de Chile, la distribuci3n de la concentraci3n de nutrientes puede agotarse en superficie, lo cual se asocia a sobresaturaciones de ox3geno disuelto (>120%) y pH m3s b3sicos (>8,2) (Silva 2006) ya que estos responden a cambios por el ingreso de agua dulce, materia org3nica y actividades antr3picas (Gonz3lez et al. 2011). Estas zonas tambi3n son afectadas por procesos f3sicos-qu3micos y biol3gicos que interactu3n a su vez entre s3. En general, son m3s productivos que lagos y oc3anos en t3rminos de biomesas.

Esta base de datos se realiz3 con la finalidad de describir la situaci3n inicial de nutrientes en la zona sur de Chile, con un periodo mensual en 98 estaciones (Figs. 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3) distribuido a lo largo de las tres regiones que comprende el monitoreo y a profundidades de 0-10 m y 10-20m, elegidas en gradientes latitudinal entre regiones y longitudinal cercanas a r3os, canales y fiordos, con el fin de observar zonas que pueden ser zonas enriquecidas o m3s pobres en la concentraci3n de nutrientes.

Las mayores concentraciones nitrato se ubicaron, en general, en la zona profunda de la mayor3a de los canales y fiordos que comienzan en el borde continental o est3n muy colindantes a 3ste durante los dos a1os de datos presentados, (Figs. 5.4.1; 5.4.2). Las concentraciones altas est3n distribuidas en periodos de inviernos para ambos a1os, siendo m3s altas para el a1o 2018. Se observa un gradiente de concentraci3n de distribuci3n horizontal de norte a sur para ambos estratos analizados, se observa la misma distribuci3n vertical y horizontal para el fosfato (Figs. 5.4.3; 5.4.4.). En primavera la concentraci3n de nitrato y fosfato, disminuyen en la superficie y la estratificaci3n se intensifica, aumentando la diferencia entre la capa superficial y profunda. Esta diferencia estacional en la capa superficial, se manifiesta por el consumo de nutrientes por parte del fitoplancton durante la primavera y verano.



La distribuci3n de los silicatos en la columna de agua, en mayor en el estrato 0-10m (Fig. 5.4.5) que en el 10-20m (Fig. 5.4.6), y su distribuci3n horizontal es descendente de norte a sur, las mayores concentraciones se observan en el periodo de primavera y verano en la capa superficial con un rango de 10 a 40 μM en la regi3n de Los Lagos y una marcada disminuci3n de las concentraciones hacia el sur.

5.5. Objetivo Específico 5

Registrar variables oceanogr3ficas y biol3gicas en zonas representativas del 3rea de estudio para continuar la modelaci3n f3sico-biol3gico de *Alexandrium catenella*.

Modelaci3n num3rica.

Comparaci3n del viento del modelo atmosf3rico con mediciones in-situ.

Los resultados del modelo WRF mostraron que este modelo atmosf3rico de alta resoluci3n es capaz de resolver las caracter3sticas principales del viento en la regi3n de estudio. Para la validaci3n de este trabajo se compararon los datos de viento de la estaci3n meteorol3gica instalada en la Isla Magdalena con el punto m3s cercano del modelo. Las rosas de viento construidas con estos datos mostraron un patr3n similar, destac3ndose los vientos de componente norte (Figs. 5.5.1a y 5.5.1b). Sin embargo, los valores de intensidad del viento del modelo fueron superiores a los datos *in-situ*.

El c3lculo del alguno de los 3ndices de rendimiento del modelo, indicaron para la componente meridional un valor de $\text{RMSE} = 2,51 \text{ ms}^{-1}$, $r = 0,66$ y $d = 0,74$ (3ndice de Willmott). Mientras que la componente zonal mostr3 un $\text{RMSE} = 2,60 \text{ ms}^{-1}$, $r = 0,16$ y $d = 0,42$ (Tabla 5.5.1). Estacionalmente, la intensidad del viento fue mayor en otoño-invierno, dominado por la componente meridional. En general, el modelo replic3 de forma satisfactoria el comportamiento del viento mostrado por la estaci3n meteorol3gica.

Comparaci3n del modelo hidrodin3mico con datos in-situ:

Registros de temperatura y salinidad del agua.

La serie de tiempo de salinidad a 1 m de profundidad, tanto en la observaci3n como en el modelo, mostr3 menores valores durante el periodo de verano ($< 10 \text{ psu}$) y m3ximos en el invierno ($> 20 \text{ psu}$) (Fig. 5.5.2 a). Extendiendo la informaci3n del modelo a 120 m. profundidad (Fig. 5.5.2 b), esta mostr3 un perfil temporal de la salinidad con una clara estacionalidad asociada a la isohalina de 33 psu, l3mite superior del Agua Subant3rtica Modificada, la cual, durante el periodo estival se encuentra en $\sim 80 \text{ m}$. y durante el invierno-primavera alcanza los $\sim 120 \text{ m}$.

La serie de tiempo observada (in-situ) de temperatura del agua a 1m mostr3 un pronunciado ciclo anual, en donde, las mayores temperaturas se registraron durante los veranos ($> 15^\circ\text{C}$) y las menores



durante el invierno ($<9^{\circ}\text{C}$), patrón inverso al observado en la salinidad, esto producto de la transferencia de calor desde la atmósfera (Fig. 5.5.2c). El perfil modelado de temperatura en profundidad, mostró en verano, temperaturas por encima de 12°C hasta los ~ 10 m. y durante el invierno una inversión térmica con valores menores a 9° que se extienden hasta ~ 10 m. en las capas más profundas, al igual que la salinidad, es posible ver estacionalidad asociada a isoterma de 9.5°C , que presenta entre los 50 y 100 m, un enfriamiento durante los veranos y calentamiento durante los inviernos (Fig. 5.5.2d).

La evaluación cuantitativa de las series de tiempo a 1m de profundidad, tanto de temperatura como de salinidad, mostraron un buen ajuste, replicando de forma correcta estos patrones antes descritos, sobre todo en temperatura, en donde, fue posible encontrar alta correlación e índice de Willmott, con valores de 0,86 y 0,9 respectivamente (Tabla 5.5.1).

Para los perfiles de temperatura y salinidad basados en estaciones de CTD, evaluados en distintas secciones del fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf, mostraron un buen ajuste en la capacidad del modelo para reproducir la estructura vertical de la columna de agua (Fig. 5.5.3). El análisis de los perfiles de temperatura permitió observar, en todas las estaciones, el importante incremento en la temperatura superficial durante el verano ($\sim 15^{\circ}\text{C}$) (Fig. 5.5.3a, 5.5.3d, y 5.5.3i), y la consecutiva inversión térmica durante el invierno (Fig. 5.5.3b, 5.5.3f, y 5.5.3j) determinando, en este caso, que la capa superficial tenga valores menores en superficie bajo los $\sim 9^{\circ}\text{C}$.

Para las estaciones evaluadas, la salinidad no muestra cambios sustantivos entre verano e invierno, (Fig. 5.5.3 c-d; 5.5.3 g-h; 5.5.3 k-l). La salinidad mostró buen ajuste en la profundidad de la haloclina, cercano a 10 m, dando cuenta que el modelo logra replicar la estructura vertical de densidad a lo largo de fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf, aunque tiende a sobrestimar la baja salinidad superficial durante el verano, sobre todo hacia la cabeza del fiordo Puyuhuapi (Fig. 5.5.3 c). La salinidad en la capa profunda respondió con alto grado de ajuste, lo que indica, en general, que el modelo logra replicar la estructura de densidad al interior de estos fiordos.

Régimen de corrientes marinas en el canal Jacaf y el fiordo Puyuhuapi.

El canal Jacaf presenta un umbral cerca de la comunicación con el fiordo Puyuhuapi con una profundidad menor a 100 m. En este umbral, dentro de un canal con orientación norte-sur, se realizaron mediciones continuas de corrientes marinas usando un equipo ADCP (Acoustic Doppler Current Profiler) anclado a una profundidad cercana a 30 m (mirando hacia arriba) entre agosto del 2014 y mayo del 2015. La señal del esfuerzo del viento en dirección norte-sur, extraída de los datos del modelo WRF, evidenció pulsos importantes de viento provenientes desde el norte, estos pulsos contienen mayor energía que vientos provenientes desde el sur (Fig. 5.5.4 a). El análisis de las corrientes marinas filtradas a lo largo de la dirección del canal (componente norte-sur) mostró varios periodos de tiempo donde el flujo se orientó en sentido sur (Fig. 5.5.4b). La corriente reproducida por el modelo mostró un patrón similar (Fig. 5.5.4c) a los datos in-situ, siendo entonces, el efecto de esfuerzo del viento superficial, el principal forzante de esta circulación (Fig. 5.5.4). Mientras, en el resto



del tiempo el flujo se orient3 en la direcci3n norte, tanto en los datos in-situ, como en los modelados (Figs. 5. 5.4b y 5.5.4c), probablemente, en este caso, este tipo de circulaci3n en las capas superficiales se encuentra controlada por el gradiente de presi3n, asociada a la descarga de agua dulce que se produce en el fiordo Puyuhuapi. Se realiz3 una evaluaci3n estadística de las corrientes marinas usando los niveles de profundidades de 5, 10 y 20 m (Tabla 5.5.1). Los resultados mostraron una mayor correspondencia en las capas m3s superficiales con un valor $d = 0,78$ y $r = 0,74$.

Modelo de *Alexandrium catenella*.

En esta etapa, la idea fue tratar de reproducir la tendencia de floraci3n de *A. catenella* observada en el periodo de transici3n de invierno a primavera del 2015, donde a partir de los datos del monitoreo de marea roja de IFOP, se observ3 que desde agosto las concentraciones de esta microalga aumentaron progresivamente hasta presentar un m3ximo en noviembre (Fig. 5.5.5a). En comparaci3n con los resultados de concentraci3n de *A. catenella* modelados (Fig.5.5.5b), se observ3 que el modelo fue capaz de reproducir esta tendencia solo para tres de las nueve estaciones ubicadas en los canales Puyuhuapi y Jacaf. Las estaciones que replicaron la tendencia observada fueron la A15, A18N1 y A19.

Los resultados de concentraci3n de *A. catenella* superficial (Fig.5.5.6) para la simulaci3n realizada en el periodo de transici3n de primavera del 2015 en los canales de Puyuhuapi y Jacaf, fueron bajos los que variaron entre 0 y 100 cél L⁻¹ donde las mayores concentraciones se registraron en los bordes de Puyuhuapi en julio y en Jacaf en septiembre.

Comparaci3n modelo biogeoquímico con datos in situ.

En general, los resultados de oxígeno disuelto modelados para agosto (Fig.5.5.7a), estuvieron subestimados, sin embargo, entre los 50 y 100 m de profundidad se observaron valores y tendencias similares a las registradas en los datos observados (Fig.5.5.7b). A pesar que los valores de concentraci3n de los datos modelados son menores a los datos observados; la tendencia de distribuci3n de oxígeno disuelto a lo largo de la transecta es similar, donde destaca una profundizaci3n de las isolíneas de oxígeno disuelto a medida que la transecta se acerca al mar interior de Chiloé.

Los resultados de nitrato modelado (Fig.5.5.7c) estuvieron subestimados en comparaci3n con los datos observados (Fig.5.5.7d), sin embargo, a grandes rasgos se registr3 el patr3n de bajas concentraciones en superficie un aumento progresivo de las concentraciones a medida aumenta la profundidad.

El oxígeno disuelto modelado para el mes de noviembre (Fig.5.5.8^a), estuvo subestimado, presentando valores de concentraci3n entre 1.5 y 6.2 mL L⁻¹ y los valores de concentraci3n para el oxígeno disuelto observado (Fig.5.5.8b), variaron entre 2.5 y 7.3 mL L⁻¹. El modelo fue capaz de reproducir la tendencia de alta concentraci3n de oxígeno disuelto en superficie y menores valores a medida que aumenta la profundidad.



El nitrato modelado para el mes de noviembre (Fig.5.5.8c), presentó bajas concentraciones en comparación con los datos observados (Fig.5.5.8d), sin embargo, el modelo es capaz de reproducir los menores valores de concentración en superficie y mayores concentraciones en profundidad.

El uso de modelos hidrodinámicos de la alta resolución en zonas estuarinas a lo largo del mundo y se ha incrementado en los últimos años como una forma de dilucidar los mecanismos presentes en su dinámica ([Gustafsson 2007](#), [Shen 2007](#), [Zhang 2010](#), [Liu et al. 2012](#), [De Brye 2012](#), [Bendtsen 2014](#), [Karna 2016](#), [Viero 2016](#)).

El modelo hidrodinámico implementado utiliza una malla desestructurada de elementos triangulares que permiten ajustar la resolución horizontal en zonas costeras de topografía compleja, alcanzando una máxima resolución de 200 m. Uno de los principales rasgos del sistema de fiordos de Chile, es su alta variabilidad en los primeros metros de la columna de agua, influenciado por el agua dulce de persistente precipitación, escorrentía y derretimiento de hielo y nieve ([Antezana et al. 1996](#), [Antezana 1999](#), [Valle-Levinson et al. 2006](#)). Para resolver esta característica, se utilizó una discretización vertical de coordenadas combinadas sigma+Z, con alta resolución en la superficie (20 capas sigma de 1 m) y una resolución más gruesa en las capas más profundas configuradas con coordenadas Z, de esta forma se evita tener una discretización vertical con pendiente muy pronunciada ya que se sabe que en regiones de topografía muy empinada, los modelos de coordenadas sigma son propensos a errores en el cálculo del gradiente de presión ([Beckman & Haidvogel, 1993](#)). El modelo utiliza información de entrada realista, tanto en el forzamiento atmosférico mediante la implementación de un modelo atmosférico basado en WRF, como también datos observados de los principales caudales de ríos del sistema.

El modelo hidrodinámico utilizado para este estudio entregó un buen ajuste respecto de diversos parámetros físicos medidos, capturando la dinámica de este sistema estuarino. Las condiciones hidrográficas en la superficie del canal Puyuhuapi están controladas por flujos océano-atmósfera, viento, marea, y escorrentía continental de agua dulce proveniente principalmente del río Cisnes ([Schneider et al. 2014](#)), el ciclo anual de temperatura y salinidad superficial gobernado por esta combinación de forzantes, muestra un buen acuerdo entre las observaciones y el modelo. En tanto, la estructura hidrográfica vertical es bien resuelta generando la adecuada estratificación en los primeros 10 m de la columna de agua.

Las corrientes en algunos sectores parecen estar fuertemente influenciados por eventos intensos de viento, el caso del umbral del canal Jacaf es un ejemplo de aquello, en este lugar, tanto el modelo como las observaciones realizadas mediante un perfilador acústico de corrientes muestran que el esfuerzo del viento sobre la superficie, en episodios transitorios, puede llegar a mover la columna de agua hasta 25 m de profundidad hacia el interior del fiordo, actuando en oposición al gradiente de presión durante estos eventos. Esto deja de manifiesto la importancia que puede tener el viento, tanto en la mezcla como el transporte al interior de este sistema.



Modelo para *Alexandrium catenella*.

El modelo durante esta etapa de trabajo, reprodujo de manera baja la concentraci3n de *A. catenella* en un periodo de transici3n invierno-primavera, lo cual puede deberse al proceso que gatilla la floraci3n de esta especie, donde se distinguen dos tipos; por advecci3n de c3lulas desde zonas aleda1as al 1rea de estudio y por presencia de quistes en sedimentos. Cuando la floraci3n se explica por advecci3n, las condiciones de bordes deben ser representativas, es por este motivo que, en los bordes, el registro de *A. catenella* debe ser m1s robusto y pensado para ser utilizados en modelaci3n, para ello esta microalga debe ser muestreada de manera discreta y en varias profundidades de la columna de agua. No obstante, a ese resultado, asociado a un periodo de transici3n en el cual no es muy frecuente encontrar floraciones de esta especie, cuando hemos modelado periodos estivales los resultados mejoran y lo ajustes a los datos observados se correlacionan significativamente, de acuerdo a lo que se observ3 en la pasada etapa del programa. Creemos que identificar periodos de transici3n, donde los cambios asociados a los procesos atmosf3ricos-oceanogr1ficos, son relevantes para el estudio de los cambios de la composici3n del fitoplancton, en el cual se encuentran estas especies nocivas. Por lo que, conocer esta variabilidad, permite vincular el esfuerzo realizado en etapas anteriores durante los periodos estivales, de manera tal de acercarnos a la modelaci3n estacional de esta especie nociva.

Modelo biogeoquímico.

Basados en la evaluaci3n cualitativa de los resultados del modelo con los datos observados y descripciones de bibliograf1a acerca de las masas de aguas; el modelo fue capaz de reproducir la presencia de las masas de agua subant1rtica (ASSA) y ecuatorial subsuperficial (AESS). Donde [Sievers \(2008\)](#) y [P3rez-Santos et al. \(2014\)](#), describen que la ASAA se ubica como una capa subsuperficial (30 -150m) con altos valores nitrato ($\sim 26 \mu\text{M}$) y valores medios para el ox1geno disuelto ($4.0 - 6.0 \text{ mL L}^{-1}$) y la AESS se presenta como una capa de fondo ubicada entre los 150 y 300m caracterizada por presentar altos valores de nitrato ($\sim 24 \mu\text{M}$) y bajo contenido de O_2 ($< 4.0 \text{ mL L}^{-1}$), sin llegar a la anoxia. A partir de esta descripci3n, el ox1geno disuelto fue la variable mejor representada a diferencia de los resultados de nitrato modelado; variable que no present3 valores de concentraci3n parecidos a los datos observados ni tendencias a lo largo de la transecta, pero s1 present3 el mismo patr3n de distribuci3n en profundidad.

El ox1geno disuelto modelado subestim3 los valores en superficie, lo cual pudo deberse en parte a los datos de viento utilizados, ya que parte del contenido de ox1geno en esta zona se debe al intercambio oce1no-atm3sfera, el que esta modulado en gran medida por el esfuerzo del viento, adem1s la 'falta' de ox1geno en esta zona en el modelo puede ser porque se subestim3 la concentraci3n de fitoplancton, ya que en los datos observados los altos valores de concentraci3n de ox1geno en esta zona est1n correlacionados con bajos valores de nitrato, lo que podr1a explicarse por el consumo de nitrato por parte del fitoplancton.



Conocer las tasas de m3ximo crecimiento de *Alexandrium catenella* a distintos rangos de temperatura, salinidad y nutrientes.

Par3metros de crecimiento.

Las tasas espec3ficas de crecimiento obtenidas de 45 diferentes combinaciones de los distintos par3metros f3sico-qu3micos utilizados se muestran en la Figura 5.5.9 y las Tablas 5.5.2 y 5.5.3. Las mayores tasas de crecimiento espec3fico fueron obtenidas en el tratamiento con la temperatura m3s alta (17°C) alcanzando rangos m3ximos entre 0,31 – 0,35 d⁻¹ indicando que la temperatura sigue siendo el par3metro que m3s afecta las tasas fisiol3gicas en esta cepa. Dentro de este set de experimentos la tasa m3s alta (0,35 d⁻¹) fue obtenida con la combinaci3n de los siguientes par3metros: temperatura 17°C, salinidad 35 psu, luz 100 $\mu\text{E m}^{-2}\text{d}^{-1}$ y concentraci3n de nutrientes de 8,8M. Salvo la intensidad de luz, todo el resto de par3metros son la combinaci3n de los valores m3s altos utilizados en los diferentes experimentos.

En segundo lugar, se observan el set de datos resultado de la combinaci3n de una mayor intensidad lum3nica (150 $\mu\text{E m}^{-2}\text{d}^{-1}$) donde se obtuvieron tasas de crecimiento espec3ficos con rangos m3ximos de 0,19 – 0,22 d⁻¹ indicando que la intensidad lum3nica es otro de los factores que inciden fuertemente en el crecimiento de esta cepa. Sin embargo, a diferencia que el resultado anterior la tasa m3s alta se obtuvo con la combinaci3n de los siguientes par3metros: luz (150 $\mu\text{E m}^{-2}\text{d}^{-1}$), salinidad 25 psu, temperatura 15°C y concentraci3n de nutrientes de 8,8M.

Por otro lado, las tasas m3s bajas se obtuvieron de la combinaci3n de intensidades de luz m3s bajas (50 μE), salinidades bajas (15 psu) y temperatura m3s baja (12°C). al Parecer la concentraci3n de nutrientes no tendr3a un efecto significativo sobre las tasas de crecimiento. Sin embargo, para saber el peso e influencia que tiene cada uno de los par3metros se realizar3 un an3lisis a trav3s de la adaptaci3n de modelos matem3ticos a nuestros experimentos, los cuales ser3n obtenidos de las modificaciones a partir de los trabajos realizados por [Paz et al \(2006\)](#), [Laabir et al \(2011\)](#) y [Salgado et al \(2015\)](#).

Explorar nuevos sitios dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas, donde realizar nuevos ejercicios de modelaci3n.

Frecuencia de *Alexandrium catenella*.

La frecuencia relativa porcentual acumulada de *A. catenella* para abundancia relativa superior a 4 en las 62 estaciones de marea roja ubicadas en la regi3n de los Lagos (Fig. 5.5.10a) variaron entre 0 y 13%, donde el m3ximo se registr3 en la estaci3n L23, es decir el 13% de los muestreos en esa estaci3n presentaron niveles de abundancia relativa de entre 4 a 9 para *A. catenella*; sin embargo, 7 estaciones registraron valores de porcentaje mayor al 10%.

La mayor3a (96%) de las estaciones ubicadas en la regi3n de los Lagos presentaron valores de abundancia relativa bajo 4.



Para las 96 estaciones de marea roja ubicadas en la regi3n de Ays3n (Figura 5.5.10b), la frecuencia porcentual acumulada de *A. catenella* para la abundancia relativa superior a 4 vari3 entre 0 a 31%, donde el m3ximo se registr3 en la estaci3n A51N1 y 66 de las estaciones presentaron valores de porcentaje mayor al 10%.

Datos disponibles.

A partir de la recopilaci3n de datos disponibles de proyectos de IFOP, en la regi3n de los Lagos los datos disponibles fueron pocos (Fig. 5.5.11a), debido a que existe una sola campaa en la zona de Chilo3, los datos m3s abundantes fueron los de CTD (Figura 5.5.11b).

En la regi3n de Ays3n (Fig. 5.5.12a), la cobertura de datos disponibles fue mayor en comparaci3n con la regi3n de los Lagos, siendo la informaci3n de los CTD la m3s abundante (Fig. 5.5.12b).

En base a la frecuencia relativa porcentual acumulada de *A. catenella* para abundancia relativa superior a 4 en la regi3n de Los Lagos, se propone como sitio de inter3s para un nuevo ejercicio de modelaci3n la bahía de Quell3n con un dominio parecido al de la fig. 5.5.13. Se escogi3 esta 3rea, ya que fue la zona que present3 los mayores valores de frecuencia relativa porcentual para *A. catenella* en comparaci3n con la obtenida para los otros sitios de muestreo de la regi3n de los Lagos, los que en general fueron bajos.

Sin embargo, esta zona no present3 mediciones oceanogr3ficas, por lo tanto, se recomienda avanzar en un muestreo con duraci3n de al menos un a3o para poder realizar la modelaci3n hidrodin3mica y biogeoquímica, para ello se debe contemplar la instalaci3n de mare3grafo, ADCP's anclados, sensores de temperatura y conductividad, lances de CTD y muestras de nutrientes, teniendo en cuenta que la informaci3n en los bordes es clave y adem3s algunas estaciones al interior del dominio.

En la regi3n de Ays3n, los resultados de frecuencia relativa porcentual acumulada de *A. catenella* para abundancia relativa superior a 4, fue distinta a la observada en la regi3n de los Lagos, ya que en general los valores fueron altos, ubic3ndose 3stos en la zona sur del canal Moraleda y en canales que dan a la zona oce3nica.

Es por ello, que para abarcar estos puntos de inter3s en la modelaci3n se propone un modelo con dominio regional para la zona de Ays3n, el dominio debe ser de car3cter regional debido a la compleja topografía que presenta la regi3n, donde se pueden apreciar diversos canales que se interconectan entre sί.

En cuanto a la densidad de datos, existen suficientes datos oceanogr3ficos como para evaluar y calibrar el modelo y para los bordes se podrían utilizar datos del sistema de informaci3n oceanogr3fica CHONOS (chonos.ifop.cl), sin embargo, no existen suficientes datos de nutrientes, es por ello que se recomienda avanzar en muestreos que capturen esta variable en este 3ltimo punto.



Otra limitación es la posible utilización del modelo de *A. catenella*, debido a que este último es un modelo del tipo euleriano y por ende se necesitara información de concentración celular en los bordes del dominio, lo que es difícil de obtener a través de muestreos debido a la extensión del modelo, sin embargo, este serviría para un modelo *A. catenella* del tipo langrangiano, es decir donde se realicen dispersiones de partículas que respondan a las condiciones del medio. Por otra parte, debido a lo extenso del dominio la modelación tiene un alto costo computacional, es por ello que se requeriría mayor capacidad de cómputo.

Registro de parámetros oceanográficos y meteorológicos en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf.

Viento: durante noviembre del 2018 a marzo del 2019 (Figura 5.5.15).

A lo largo de la serie, predominó viento desde el sur-oeste característico de la época de verano entre 4 ms^{-1} y 8 ms^{-1} , el viento del nor-oeste estuvo presente en este período y alcanzó mayores magnitudes que el viento desde el sur, entre 8 ms^{-1} a 12 ms^{-1} .

Hidrografía transecto canal Puyuhuapi – canal Jacaf.

La temperatura fluctuó entre 8°C y 18°C (Fig. 5.5.16), con mayores registros en superficie disminuyendo con la profundidad, las mayores temperaturas ($> 18^{\circ}\text{C}$) se observaron en la capa superficial ($>5 \text{ m}$) de la columna de agua, en las estaciones A19N2 y la A17, abarcando la cabeza del canal Puyuhuapi hacia canal Jacaf. La isoterma de 11°C se profundizó desde el canal Jacaf al canal Puyuhuapi de 15 m a 20 m . La isoterma de 9°C estuvo presente bajo los 120 m de profundidad en el canal Jacaf. La salinidad (Fig. 5.5.16) varió entre 18 a 34.5 , los cuerpos de agua dulce (< 21), se ubicaron sobre los 5 m entre las estaciones SM, A19N2, A16N1, coincidente con la cabeza del canal Puyuhuapi y Jacaf. La salinidad aumentó con la profundidad, la isohalina de 34 se registró bajo los 150 m en la boca del canal Puyuhuapi y Jacaf. La isohalina de 31 se profundizó, desde el canal Jacaf al canal Puyuhuapi de 10 m a 20 m , respectivamente.

La concentración de oxígeno disuelto (Fig 5.5.17) varió entre 2 mL L^{-1} y 8 mL L^{-1} , disminuyó con la profundidad a lo largo de ambos canales, las altas concentraciones de oxígeno fueron registrados en las estaciones A19N2 y A14 entre los 5 m y 8 m ($>7 \text{ mL L}^{-1}$). Se observó una columna más oxigenada en el canal Jacaf, con una disminución gradual de la concentración de oxígeno. Las menores concentraciones fueron en la estación A19N2 hacia el fondo.

Los mayores valores de fluorescencia (Fig. 5.5.17) se registraron en las estaciones A19N2 y A14 a los 10 m y 5 m , coincidentes con los puntos de mayor concentración de oxígeno. Los valores sobre 1 mg m^{-3} , se registraron en los primeros 20 m de la columna de agua.



Los mayores valores en la frecuencia de boyantes (Fig. 5.5.18), se ubicaron sobre los 20 m, extendiéndose desde el canal Jacaf a la estación A20N1 del canal Puyuhuapi. Los valores altos fluctuaron entre los 3 m y 15 m de profundidad, en Jacaf se registraron los máximos valores. Esto significó que, la estratificación dominó los primeros 20 m y bajo esta profundidad dominó la mezcla, al igual que en los 3m de profundidad.

Hidrografía transecto canal Moraleda.

La temperatura a lo largo del canal Moraleda fluctuó entre 9°C y 18°C, disminuyendo con la profundidad. A lo largo de Moraleda, de norte a sur, se observó en superficie mayores temperaturas, particularmente en la estación E2 (norte de Moraleda) disminuyendo hacia el sur. La isoterma de 12°C osciló entre los 8 m y 15 m a lo largo del transecto. La isoterma de 11°C se encontró a los 60 m en el norte de Moraleda y ascendió hacia el sur del Moraleda. Bajo los 100 m la temperatura es <10°C.

La salinidad (Fig. 5.5.19) varió entre 28 y 34, aumentando con la profundidad. Superficialmente la salinidad aumentó desde Moraleda sur hacia Moraleda norte; asociado aportes de agua dulce del sur. La haloclina presentó una pendiente negativa hacia el sur. Bajo los 130 m a 150 m se registró la isohalina de 34.

La concentración de oxígeno (Fig. 5.5.20) en Moraleda fluctuó entre 2 mL L⁻¹ a 8 mL L⁻¹ disminuyendo con la profundidad, los cuerpos de agua más oxigenados se ubicaron en Moraleda sur en las estaciones E5, E6 y E1, entre los 0 m y 10 m. Bajo los 90 m, la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo por debajo de 3 mL L⁻¹.

La fluorescencia (Fig. 5.5.20) exhibió alzas entre los 3 m y 10 m a lo largo del transecto, alcanzando un valor de 10 mg m⁻³.

Los mayores valores en la frecuencia de boyantez (Fig. 5.5.21), se registraron entre 3 m y 15 m, indicando que la estratificación dominó en ese estrato de profundidad y bajo los 15 m dominó la mezcla al igual que sobre los 3 m.

Anclaje Jacaf (noviembre 2018 a marzo 2019).

La temperatura en la boca del canal Jacaf a 10 m (Fig. 5.5.22) osciló entre 10°C y 15°C, aumentando la temperatura de noviembre a febrero y disminuyendo la salinidad, la cual osciló entre 16 y 12,5. A 15 m la oscilación de temperatura (Fig. 5.5.23) fue entre 11°C y 14,8°C, lo cual coincidió con la disminución de salinidad durante diciembre y febrero. La salinidad a 15 m varió entre 20.8 y 23.9.

La temperatura a 20 m (Fig. 5.5.24) fluctuó entre los 10°C y >12°C, aumentando de diciembre a marzo, incluyendo períodos de alzas de temperatura como por ejemplo del 13 al 21 de diciembre, 29 al 6 de enero, y del 30 al 7 de febrero. A 30 m y 50 m de profundidad la fluctuación de temperatura fue entre 10°C y 11°C. De los 80 m a 150 m la variación fue entre 10°C y 9°C, la isoterma de 9.5°C asciende



desde noviembre a marzo. La salinidad a 20 m varió entre 28 y 30, con periodos de menor salinidad coincidente con alzas de temperatura. A 30 m la isohalina de 31 dominó en la serie de tiempo. Entre 50 m y 80 m fluctuó la isohalina de 32, entre los 100 m y 150 m la salinidad es sobre los 32. El sensor de temperatura y oxígeno a 150 m (Fig. 5.5.25 a,b) mostró como la temperatura disminuyó levemente de 9.3°C a 9°C, disminuyendo también la concentración de oxígeno de 5 mL L⁻¹ a 3.5 mL L⁻¹.

Anclaje Puyuhuapi (noviembre 2018 a marzo 2019).

El anclaje a 10 m en la boca del Puyuhuapi (Fig. 5.5.26), exhibió una fluctuación de la temperatura con una tendencia a aumentar en el tiempo (10°C a 13,5°C), mientras que la salinidad mostró una tendencia a disminuir (25 a 22).

A los 15 m la temperatura fluctuó (Fig. 5.5.27) entre 10,5°C y 14°C, mientras que la salinidad osciló entre los 23,8 y 21. Es importante señalar que, las alzas de temperatura son coincidentes con las bajas salinidades. La temperatura a los 20 m (Fig. 5.5.28) varió entre 10,5°C y los 12°C. A los 30 m y 50 m osciló la isoterma de 10°C profundizándose con el tiempo, bajo los 80 m la isoterma de 9.5°C presentó leves fluctuaciones. La salinidad entre 20 y 150 m evidenció como las isohalinas de 31 y 32 mostraron una tendencia a ascender con el tiempo, a los 150 m a fines de febrero la isohalina de 33 aparece ascendiendo.

La temperatura y la concentración de oxígeno a los 150 m (Fig. 5.5.29) mostró una leve variación de la temperatura con 9,1°C, el oxígeno a los 150 m presentó un alza sobre 4 mL L⁻¹ en diciembre y posteriormente descendió a 3 mL L⁻¹.

Nutrientes y abundancia de especies nocivas.

De acuerdo a las muestras discretas obtenidas de las estaciones de monitoreo A14 en el canal Jacaf y A19 y A22 en el fiordo Puyuhuapi (Fig. 5.5.30 – 5.5.34), se pudo observar que, en general, durante entre los meses de octubre de 2018 y febrero de 2019 la columna de agua presentó una estratificación débil con una picnoclina asociada a los primeros metros de la columna de agua (5-10 m), donde los mayores valores de nutrientes estuvieron asociados a profundidades bajo la picnoclina y valores máximos durante el mes de febrero, principalmente de nitrato y silicatos (>20 y >60 µM, respectivamente). Los altos valores de silicatos coinciden con las altas abundancias celulares de la diatomea *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* (>200.000 cél L⁻¹). Esta especie junto con *Pseudo-nitzschia* cf. *australis*, estuvieron presentes durante todos los meses de muestreo, esta última, con mayores abundancias celulares asociadas a los meses de primavera (octubre, noviembre 2018).

En general durante este periodo de muestreo se caracterizó por una baja o nula presencia de los dinoflagelados nocivos *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Dinophysis acuta* y *Protoceratium reticulatum*, la excepción lo constituye *Dinophysis acuta*, con una importante presencia en las tres estaciones durante el mes de diciembre de 2018, sin embargo, que no sobrepasó las 6000 cél L⁻¹. Estos resultados contrastan con lo registrado en la etapa anterior del proyecto, en donde se observaron concentraciones de *A. catenella* cercanas a 50.000 cél L⁻¹, lo que indica que durante esa



campana esta especie estuvo presente en condición de floración, especialmente en las estaciones ubicadas en la boca del fiordo Puyuhuapi (A22) y canal Jacaf (A16).

A partir de la ausencia de *A. catenella*, durante este muestreo, hubo que usar los datos de distribución vertical de la etapa anterior, como forma de ajustar las condiciones iniciales del modelo, así como el perfil promedio de la distribución vertical de *A. catenella* para reproducir de buena forma la estructura de distribución subsuperficial generada por el modelo.

Masas de agua.

De acuerdo a la salinidad que se observó en el transecto Puyuhuapi y Jacaf, las masas de agua que ingresan a estos canales son; ASSA bajo los 60m y sobre los 150m, el AESS bajo los 150m, fluctuando a lo largo de los canales bajo los 200m. Los cuerpos de agua modificados: AES entre los 5m a 20m, ASSAM entre los 15m a 20m, también estuvieron presentes en los primeros metros de la columna de agua.

La hidrografía de los fiordos australes usualmente se caracteriza por una estructura de dos capas con una alta variabilidad en los 5m a 10m influenciada por agua dulce. Bajo esta capa, el agua es salina y más uniforme de acuerdo a características hidrográficas como mencionan en estudios efectuados en la zona de fiordos chilenos ([Schneider et al., 2014](#), [Sievers, 2008](#); [Silva & Calvete, 2002](#)). Esto es concordante con los datos analizados para el verano del 2019 en el canal Puyuhuapi y Jacaf, la estratificación a lo largo de estos canales fue mayor entre los 5m y 10m en la cabeza de ambos canales, bajo los 15m domina la mezcla y los cambios son leves. La temperatura superficial es mayor en la cabeza de los canales, en el caso de la salinidad superficial es menor en la cabeza de los canales. Los máximos de clorofila y oxígeno fueron en entre los 5m y 10m en cabeza Puyuhuapi hacia el canal Jacaf.

El ciclo estacional que menciona [Schneider et al. \(2014\)](#), en relación a salinidad y temperatura superficial, se observó en la serie de tiempo a los 10m y 15m de profundidad en ambos canales, donde se registró un calentamiento y disminución de salinidad desde diciembre a febrero.

La uniformidad en capas más profundas de la columna de agua está influenciada por una compleja batimetría con profundidades sobre 400m, lo que genera varias cuencas en los canales ([Schneider et al., 2014](#)) que se conectan con el océano costero vía canal Moraleda.



5.6. Objetivo Específico 6:

Continuar con el análisis interpretativo iniciado en 2014 de la base de datos disponible desde mayo de 2006, segregando por complejo tóxico y fitoplancton nocivo asociado y en correspondencia con las variables bióticas y abióticas disponibles

Análisis de patrones climáticos de gran escala y su relación con FANs en fiordos y canales del sur de Chile de las regiones de Los Lagos y Aysén.

El análisis de cada variable es bastante complejo debido a la gran extensión de la zona de estudio y la alta variabilidad espacial en las características físicas y geomorfológicas entre regiones; sin embargo, se pueden establecer patrones característicos para cada zona como una primera aproximación a un posterior análisis más detallado de cada estación monitoreada.

Los resultados mostraron que para las zonas de Los Lagos norte y Aysén sur el índice que mejor se correlaciona con la especie *Dinophysis acuminata* (variable biológica) fue la combinación entre el MEI y IODP ($r^2=0.70$, $p<0.050$) (Fig. 5.6.1). Este resultado es predecible debido principalmente a que la otra especie en estudio (*A. catenella*), por barreras geomorfológicas y oceanográficas no ingresa a la zona del seno y estuario de Reloncaví, por lo que su abundancia a través de toda la serie de tiempo es muy baja o prácticamente nula. Por otro lado, tanto el MEI y el IODP por separado mostraron correlaciones más bajas que la combinación de ambos índices, pero las cuales sin embargo fueron significativas, mientras que no se aprecia correlación para estas zonas con el IOA (Tabla 5.6.1). En cuanto a las variables físicas, la salinidad fue la que se correlacionó de mejor forma con este índice ($r^2=0.64$, $p<0.05$), seguida de la temperatura superficial del mar (Tabla 5.6.2). Al tratarse de zonas estuarinas (en el caso de la zona del Estuario de Reloncaví) y de grandes ríos y fuertes deshielos por la presencia de glaciares en la zona (en el caso de Aysén Sur), es bastante lógico que la salinidad es el factor más importante dentro de las variables físicas que podrían estar regulando la ocurrencia de floraciones en estas zonas.

Para las zonas de Los Lagos Sur y Aysén Norte la combinación entre el MEI y el IODP nuevamente fue el índice que obtuvo las correlaciones más altas, pero esta vez la variable biológica que mejor se correlacionó con este fue la especie *Alexandrium catenella* ($r=0.76$, $p<0.05$) (Fig. 5.6.2). El resto de los índices por separado presentan correlaciones un poco más bajas, pero siguen siendo significativas, excepto el IOA el cual nuevamente no se correlaciona con ninguna de las variables (Tabla 5.6.3). El hecho que estas dos zonas correlacionen juntas puede deberse, primero, a la cercanía geográfica y conexión oceanográfica que poseen, en este caso tomando fuerza la hipótesis de que las floraciones podrían generarse en la región de Aysén, siendo las células advectadas por las corrientes hacia la zona sur de Chiloé donde son acumuladas y re-advectadas hacia otras zonas, lo cual dependerá principalmente de las corrientes y los vientos que afecten a la zona. El segundo aspecto tiene relación con la conexión más directa que tienen ambas zonas con el océano abierto, por lo que podemos aplicar una segunda hipótesis la cual nos dice que las floraciones se generarían en el océano abierto y serían llevadas hasta las costas y la zona del mar interior de Chiloé además de canales y fiordos de la región de Aysén. Por otra parte, esta cercanía con el mar abierto hace que estas zonas tengan características



oceanogr3ficas totalmente diferentes a las dos zonas antes vistas, esto se ve reflejado en los resultados en relaci3n a las variables f3sicas donde la luz PAR fue la que obtuvo una mejor correlaci3n con este 3ndice ($r^2=0.62$, $p<0.05$), mientras que la segunda variable que fue, al igual que en las zonas de Los Lagos norte y Ays3n sur, la temperatura superficial del mar. La salinidad en este caso tiene una variaci3n menor con respecto a las otras zonas, por lo que no es significativa (Tabla 5.6.4).

En general, los an3lisis de la distribuci3n espacio – temporal de los taxones nocivos y variables ambientales nos permiten generar informaci3n tendiente entender los procesos que generan las proliferaciones, los factores que las modifican e incluso cu3les son los factores pueden hacerlas desaparecer. Por otra parte, el conocimiento de la distribuci3n geogr3fica de las especies nocivas es necesario para explicar, entre otras cosas hasta qu3 punto los eventos de proliferaciones son nuevos o recurrentes y cu3l es su 3rea de cobertura. Sin duda, y asociada a estas proliferaciones est3n las condiciones ambientales que modulan la composici3n del fitoplancton y en especial de las especies nocivas y como eventos a gran escala (ej. eventos ENOS) pueden afectar sus diferentes patrones de densidad, cobertura geogr3fica y distribuci3n.

Sin embargo, nuestros resultados nos indican que las respuestas de las comunidades fitoplanct3nicas y en especial las especies de dinoflagelados nocivos no siempre son consistentes y est3n sujetas a diferentes factores, tanto geomorfol3gicos como oceanogr3ficos, dependiendo de la latitud y el 3rea donde est3n emplazadas las estaciones de muestreo. Esto se ve reflejado en los resultados obtenidos donde las especies de microalgas variar3n o tendr3n mayor 3xito dependiendo de diferentes factores ambientales a los cuales est3n expuestos. La gran diversidad de ambientes que presentan los canales y fiordos del sur de Chile hace que estos an3lisis sean a3n m3s complejos y a pesar de que existen algunos grandes patrones de distribuci3n, siempre esta compleja diversidad hace que las variaciones locales sean muy importantes.

A pesar de esto y a que las correlaciones no son lo suficientemente altas como para sacar conclusiones, si podemos observar que emergen peque1os patrones que nos pueden llevar a encaminar otros an3lisis y afinar detalles para poder entender mejor la influencia y din3mica de los patrones de gran escala en la distribuci3n y relaci3n con las FANs en el sur de Chile. Relacionado con este mismo punto tambi3n cabe destacar que esta es nuestra primera aproximaci3n al estudio de la influencia de estos patrones. Sin embargo, nuestra serie de tiempo aun parece ser muy corta para el estudio de eventos que pueden tener ciclos muy largos y ver su real influencia dentro de la variaci3n anual o interanual que pueden presentar las distintas floraciones.

Por 3ltimo, destacar que la combinaci3n de diferentes 3ndices (en nuestro caso la combinaci3n del MEI y IODP) podr3an o parecen explicar de mejor forma las respuestas de las comunidades fitoplanct3nicas que si hacemos el an3lisis de cada uno de los 3ndices por separado. En este caso es importante incorporar el t3rmino de teleconexiones que pueden existir entre eventos de distintas escalas tanto de tiempo como en cuanto a cobertura geogr3fica, m3s si pensamos en que algunos de estos fen3menos pueden afectar el clima a nivel global y la variaci3n local de cada zona. Sin duda que este tipo de fen3menos tiene una fuerte influencia ya sea de forma directa o indirecta sobre la din3mica de las FANs en los canales y fiordos del sur de Chile por lo que hay que poner 3nfasis en el an3lisis



de estos y los efectos que puedan generar tanto en el presente como en el futuro.

Abundancia del micro-fitoplancton y *Alexandrium catenella* en relación con los índices climático-oceanográficos en la región de Magallanes, Chile: periodo 1997-2017.

Correlaciones entre anomalías estandarizadas de las variables biológicas

La anomalía estandarizada anual de la abundancia relativa (AR) de *A. catenella* por área: Norte (N), Centro (C) y Sur (S), estuvo directa y significativamente correlacionada con la AR de la misma microalga en uno o más de los sitios de muestreo dentro de las mismas áreas geográficas consideradas (Tabla 5.6.5). Este resultado señaló la posibilidad de establecer estaciones representativas para cada área con relación a las variables de AR de *A. catenella* y de toxicidad por VPM.

La Tabla 5.6.6a muestra un fuerte grado de correlación y alta significancia de las anomalías anuales estandarizadas de las variables de AR de *A. catenella* entre las áreas geográficas *versus* sitio de muestreo representativo dentro de éstas. Sin embargo, esa correlación baja a un grado medio cuando se trata de las anomalías estandarizadas anuales de VPM entre los mismos pares de variables considerados (indicados en gris).

Las anomalías anuales estandarizadas de toxicidad por VPM pueden alcanzar una correlación fuerte si el área norte, es acotada a un número de sitios de menor cobertura geográfica dentro del área (Tabla 5.6.6b) para ser representadas por las estaciones M06 y M16. Tal situación no observada para la estación M12, por lo que su representatividad podría estar limitada a un número menor estaciones en este sector en particular. Sin embargo, M12 fue considerada de acuerdo los criterios señalados anteriormente, y por ser la única estación del área norte cuya anomalía estandarizada anual de AR de *A. catenella* se correlacionó positivamente, aunque en grado débil, con la de VPM-N (Tabla 5.6.5), y negativamente débil con el índice AAO (ver sección más adelante).

Esto indica que otros no necesariamente los sitios con mayor *A. catenella* presentaran las mayores toxicidades. Procesos como el grado de exposición al océano de los sitios de muestreo (e.g. M11-12, M15-16), zonas de fiordos, deshielos y formación de frentes halinos (e.g. M05, 08, 25N, 10), son condiciones que favorecen la acumulación física de *A. catenella*, pero no necesariamente implican un aumento en el consumo de fitoplancton por filtración por parte de los moluscos o, que favorezcan los procesos de detoxificación de los mismos.



Correlaciones de anomalías estandarizadas de índices climáticos de macroescala y las variables biológico-ambientales de la región de Magallanes

MEI, Presión atmosférica, AAO y densidad celular del fitoplancton.

En relación con los Índices, la anomalía anual estandarizada del MEI, mostró una correlación inversamente significativa con la anomalía anual de la presión atmosférica, ésta última registrada en Punta Arenas (PresAt PA), para el período de estudio (Tabla 5.6.7, Fig. 5.6.3). Así también, mostró una correlación directamente significativa con la anomalía anual de la densidad celular del fitoplancton del área norte. La anomalía anual estandarizada de la presión atmosférica para la ciudad de Punta Arenas (PresAt PA), también mostró una correlación entre débil (áreas norte y centro) y fuerte (área sur), aunque siempre inversamente significativa, con las anomalías estandarizadas anuales de la AR de *A. catenella* por área geográfica y con algunos de los sitios de monitoreo dentro de éstas (Tabla 5.6.8). Los resultados de la Tabla 5.6.8, muestran que las anomalías positivas de las AR de *A. catenella* en las tres áreas geográficas tienden a aumentar con las anomalías de la presión atmosférica en PA negativas (bajas presiones) (Fig. 5.6.4). La fuerza de esta relación mejora hacia las latitudes más altas si se consideran las áreas geográficas en toda su extensión y no los sitios puntuales como son las estaciones que las representan. Este resultado sugiere una mejor correlación de la anomalía estandarizada anual de la presión atmosférica que se registra en PA, con las variables biológicas de mesoescala que cuando se considera una escala puntual para las bio-variables. El grado de las correlaciones, entre débiles y fuertes, indican que las anomalías negativas anuales de la presión atmosférica de PA, sólo explica parte de la variabilidad de las anomalías positivas de las variables AR y VPM para la región de Magallanes.

Índice AAO.

La anomalía anual estandarizada del índice AAO fue inversamente significativamente con la anomalía anual de AR de *A. catenella* del sitio M12 (isla Figueroa) en el área N, pero directamente significativa con las anomalías trimestrales (trimestres enero-febrero-marzo y julio-agosto-septiembre) de la AR de *A. catenella* del sitio M35 (San Isidro) en el área centro y con el primer trimestre en el área sur (Tabla 5.6.9, Fig. 5.6.5).

Anomalías anuales de AR de *A. catenella* y VPM por sitio representativo de cada área geográfica.

Las anomalías estandarizadas anuales de AR de *A. catenella* por sitios representativo de cada área geográfica, fueron directamente significativas con las anomalías anuales de toxicidad por VPM en los mismos sitios (Tabla 5.6.10, Figs. 5.6.5; 5.6.6). El resultado sugiere que otros procesos intervienen y mayores análisis se requieren para establecer el tipo de procesos que influyen y escala en la que operan. De esta forma, los resultados están confirmando un factor desencadenante a gran escala que regula las distribuciones de *A. catenella* y su abundancia, pero los factores temporales locales y a corto plazo parecen influir fuertemente en esta distribución. Como ejemplo dentro de este contexto, las anomalías estandarizadas anuales de la presión atmosférica estuvieron significativamente correlacionadas con las respectivas anomalías de AR de *A. catenella* de las diferentes áreas



geogr3ficas, as3 como con las de los sitios representativos de 3stas. En tanto las anomal3as anuales estandarizadas del 3ndice AAO estuvieron significativamente correlacionadas con las anomal3as estandarizadas trimestrales de AR de *A. catenella* de s3lo algunos de sitios representativos de cada 3rea. Los resultados est3n de acuerdo con la escala de los tipos de clima sin3pticos y los patrones clim3ticos en la Patagonia austral como los descritos por [Weidemann et al. \(2018\)](#), hip3tesis que requiere ser abordada con mayor an3lisis. Tamb3n, otros an3lisis requieren ser realizados en el futuro pr3ximo, como es considerar los trimestres desde diciembre del a3o anterior (no desde enero como se realiz3 en este estudio) y promedios mensuales por 3rea y sitio de muestreo en las estimaciones de las respectivas anomal3as de 3ndices globales clim3ticos y las variables aqu3 consideradas. Finalmente, es destacable mencionar que las diferentes 3reas geogr3ficas consideradas (N, C, y S) parecen comportarse diferente de acuerdo a la intensidad de los eventos de floraciones y toxicidad en los moluscos y escala espacial que cubren dichos eventos. No obstante, los resultados tambi3n reflejan el efecto de procesos de menor escala espacial como grado de exposici3n oce3nica de los sitios de muestreo, influencia de masas de agua que incursionan al interior de canales y fiordos e influencia de deshielos y escorrent3a fluvial en los fiordos, resultados que coinciden con lo reportado por [Paredes et al \(2014\)](#).

Cobertura geogr3fica de dinoflagelados productores de toxinas lipof3licas y paralizante durante los 3ltimos 20 a3os en el ecosistema de fiordos y canales sub-ant3rticos.

Niveles de AR hist3rica de *D. acuta*.

Los resultados muestran que la AR de *D. acuta* ha sido variable interanualmente durante los 22 a3os de monitoreo (Fig.5.6.7). En la figura es posible distinguir 3 periodos: Entre 1996 y 2000, cuando los niveles de AR fueron <5, con un rango de porcentaje de presencia anual de la microalga de 9-13%. Durante los siguientes 11 a3os (2001-2011), los niveles de AR disminuyeron a <4, con un rango de presencia porcentual bajo (1-8%). Entre 2012 y 2017, los niveles de AR nuevamente aumentaron a >4, hasta alcanzar niveles m3ximos de 5 en 2013 y 2017, y nivel 6 en 2016. Durante este 3ltimo periodo tambi3n aument3 la presencia de la microalga durante este lapso, con un rango porcentual de 6-26%.

Niveles de AR hist3rica de *D. acuminata* y *P. reticulatum*.

En el caso de *D. acuminata*, los primeros 6 a3os (2006-2011) del periodo de estudio, los indicadores de dispersi3n son menores que en los siguientes 6 a3os (2012-2017) (Fig. 5.6.9, superior). Durante el primer periodo, los niveles de AR fueron <5, con un porcentaje de presencia anual entre 14 y 57%, mientras que en el segundo periodo los niveles de AR fueron >5, alcanzando niveles m3ximos de 9 en 5 de los 6 a3os del segundo periodo. El porcentaje de presencia anual tambi3n aument3 en este segundo periodo, entre un 73 y 89%.

Un patr3n similar fue observado para *P. reticulatum* (Fig. 5.6.9, inferior). Entre 2006 y 2011, los niveles de AR fueron <3 y el porcentaje de presencia anual fluctu3 entre ausente y un 5%. Durante el segundo



periodo (2012-2017), los niveles de AR fueron >3 , alcanzando un nivel máximo de 7 en 2017, mientras el rango porcentual de presencia anual aumentó, 18-29%.

Porcentaje de presencia y frecuencia de los diferentes niveles de AR histórica.

La figura 5.6.9, muestra los porcentajes de presencia anual de las microalgas (columnas azules) y los porcentajes de frecuencia de los diferentes niveles de AR de las microalgas en estudio (curvas en colores). Este último parámetro representa un desglose por nivel de AR, que representa las columnas azules y es un indicador de la intensidad de las floraciones para las cuatro microalgas en estudio.

De las cuatro microalgas, destaca la presencia de *D. acuminata*. Esta especie, estuvo presente en más del 80% de las veces que fue monitoreada anualmente en los últimos 5 años, con porcentajes de niveles de AR relativamente altos (mayor intensidad) (Fig. 5.6.9, superior derecha), en relación al resto de las microalgas en estudio.

D. acuta y *P. reticulatum*, en general mostraron indicadores bajos, mientras que la presencia de *A. catenella* fue variable durante el periodo de estudio, con intensidades ≥ 4 , en 11 años del lapso en estudio: 1997-1998, 2002-2003, 2007, 2009-2010-2011-2012, 2016-2017.

Las tres microalgas productoras de TL, aumentaron el promedio porcentual de presencia en la región (RA > 0) desde 2012 (Fig. 5.6.10). Hasta 2011 y periodo 2012-2017, *D. acuminata* aumentó desde 41 ± 17 a $83 \pm 5\%$; *P. reticulatum* desde 2 ± 2 a $22 \pm 4\%$; y *D. acuta* desde 7 ± 3 a $17 \pm 7\%$.

A. catenella, además de su expansión septentrional, aumentó su porcentaje de presencia en la región de Magallanes: Desde $28 \pm 11 \%$ durante el período 1996-2009, a $54 \pm 7 \%$ entre 2010 y 2017.

Porcentaje de cobertura geográfica histórica.

Las tres especies productoras de TL aumentaron su cobertura geográfica (Fig. 5.6.10, curva negra, eje der.). *D. acuta* mostró incrementos esporádicos: hasta un 60 y 70% de cobertura geográfica en años específicos: 1998-1999 y 2012-2013. *D. acuminata* aumentó hasta el 96 % en 2009, y desde 2010 ha cubierto el 100% de la región. *P. reticulatum* aumentó más del 70% desde 2012, presentando un promedio de cobertura geográfica desde entonces, de $83 \pm 8\%$. En términos comparativos, *A. catenella* aumentó su cobertura geográfica en más del 90% desde 2008, presentando un promedio de cobertura geográfica desde entonces, de $94 \pm 4\%$.

En resumen, los indicadores de dispersión señalan que en los últimos años ha ocurrido una mayor presencia de las microalgas productoras de TL, aunque con diferentes intensidades de floración. Los más altos niveles absolutos de AR (≥ 6) para las tres microalgas productoras de TL, ocurrieron durante los últimos 6 años (Figs. 5.6.7 y 5.6.8): 2013, 2016 y 2017 (con niveles 5, 6 y 5, respectivamente) en el caso de *D. acuta*; 2012-2015 y 2017 en *D. acuminata* (con nivel 9), y 2017 en *P. reticulatum* (nivel 7). Los mismos resultados indican, una tendencia al aumento de los niveles de AR en las diferentes microalgas.



Los porcentajes de AR por nivel (Fig. 5.6.9) tambi3n aumentaron en las tres microalgas productoras de TL. Esto fue especialmente evidente en los niveles >3 en *D. acuminata* y *A. catenella*, mientras que *D. acuta* y *P. reticulatum* aumentaron los niveles de AR <3.

El estudio muestra evidencia de una expansi3n hacia el sur (42° a 55° S) de las microalgas productoras de TL as3 como un aumento de su cobertura geogr3fica en Magallanes. Esta tendencia se observa especialmente en *D. acuminata*, cuyo porcentaje de presencia anual entre 2012 y 2017 alcanz3 hasta un m3ximo de 89% (2015), el mayor porcentaje de presencia alcanzado de las tres microalgas productoras de TL analizadas, y una cobertura del 100% en la regi3n en los 3ltimos 5 a3os. Esta microalga est3 asignada como productora de toxinas okadaatos (de efectos diarreicos en las personas) (Uribe et al., 2001; Pizarro, 2014) pero tambi3n ha sido asociada a la producci3n de pectenotoxinas (con efectos en bioensayo rat3n inyectado por v3a intraperitoneal, pero con muy baja toxicidad por v3a oral) en la regi3n de Magallanes. De modo que es esperable un aumento de los falsos positivos a VDM por bioensayo rat3n. Una situaci3n similar estar3a ocurriendo con *P. reticulatum* y su producci3n de yesotoxinas en Magallanes (Pizarro, 2014), aunque con menor impacto comparado con *D. acuminata*.

Contenido y perfil de toxinas en poblaciones naturales de *Alexandrium catenella* en canales del sur de Chile.

Composici3n y contenido de toxinas paralizantes en poblaciones naturales de *Alexandrium catenella*.

Siete an3logos de toxinas paralizantes fueron identificados en la zona de estudio: GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5 (B1), C1 y C2. El perfil de toxinas fue muy similar en la zona de estudio, donde GTX 1-4 fueron los an3logos dominantes (Puyuhuapi: 52,7%; Jacaf: 48,8%; Moraleda: 50,1%), seguido por GTX 2-3 (Puyuhuapi: 33,2%; Jacaf: 38,2%; Moraleda: 38,8%), C2 (Puyuhuapi: 12,5%; Jacaf: 11,1%; Moraleda: 9,7%), GTX5 (Puyuhuapi: 0,9%; Jacaf: 1,7%; Moraleda: 1,3%), mientras que C1 estuvo presente en concentraciones trazas para los tres canales (menor 1%). No fueron detectados los an3logos dcGTX2, dcGTX3, SXT y dcSXT. Aunque los pares epim3ricos (GTX1,4) fueron anal3ticamente separados, estos datos fueron combinados por la f3cil epimerizaci3n para el equilibrio termodin3mico durante la preparaci3n y almacenamiento (Fig. 5.6.11).

En general, las poblaciones analizadas en este estudio presentaron un amplio rango en el contenido de toxinas paralizantes (Fig. 5.6.12). En Puyuhuapi, se observ3 una baja cantidad de toxinas (11-15 fmol cel⁻¹), en canal Jacaf cantidades moderadas de toxina paralizante (27-36 fmol cel⁻¹), mientras que en canal Moraleda, se observ3 el contenido de toxinas m3s alto, en comparaci3n con los otros dos canales (59-134 fmol cel⁻¹).



Características oceanográficas de Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda (Temperatura y Salinidad) y su relación sobre el contenido y composici3n de toxinas paralizantes.

Puyuhuapi

En este canal se registr3 la mayor temperatura en comparaci3n con los canales Jacaf y Moraleda debido a que la mayor descarga de agua estuarina sale por este canal. La presencia de agua dulce provoca un patr3n vertical dominado por la salinidad, el que se presenta todo el a3o ([Schneider et al., 2014](#)). Sin embargo, la distribuci3n espacial de la pluma de río Cisnes en los canales Puyuhuapi y Jacaf, est3 asociado con la direcci3n del viento predominante, donde los vientos que se dirigen hacia el fiordo tienden a oponerse a la circulaci3n gravitacional.

Jacaf

La temperatura en el canal Jacaf fue mayor en la cabeza ($>16^{\circ}$), lo cual puede ser atribuido a la presencia de agua estuarina salada (salinidades de 2 -31) generada por la mezcla de aguas estuarinas probablemente provenientes de la descarga de los ríos Cisnes y Ventisqueros con agua salada, donde el porcentaje de agua estuarina es mayor cerca de la cabeza. Esta capa de agua estuarina salada tiene una extensi3n a lo largo de todo el canal Jacaf hasta aproximadamente 10m de profundidad, presentando una mayor estratificaci3n en la cabeza en comparaci3n con la boca del canal, coincidiendo con la presencia de los máximos de fluorescencia los que se ubicaron bajo la capa de agua estuarina ($>10\text{m}$) y en las estaciones con menor estratificaci3n (boca del canal Jacaf).

Moraleda

El canal Moraleda se caracteriz3 por registrar las menores temperaturas en superficie al igual que la salinidad, es decir este canal tiene la menor influencia estuarina en comparaci3n con el canal Puyuhuapi y Jacaf.

Contenido de Toxinas

Se observ3 que a bajas temperaturas en la columna de agua (12 a 13°C , canal Moraleda) se presentaron los mayores contenidos de toxina ($>100\text{ fmol cel}^{-1}$). En sistemas con mayor temperatura (13 a 14.5°C) se present3 un rango en el contenido de toxina mucho más amplio, pero con valores más bajos (10 a 60 fmol cel^{-1}). En relaci3n a la salinidad, entre 26 a 28 psu el contenido de toxina fue menor a los 40 fmol cel^{-1} . Sobre los 29 psu, los valores fluctuaron entre los 60 a 140 fmol cel^{-1} (Fig. 5.6.13).

En base a los resultados, las poblaciones naturales de canales de la regi3n de Aysén presentaron una dominancia de toxinas carbamoil (GTX 1,4 y GTX 2,3) y sulfocarbamoil (C2), una baja representaci3n de C1, y ausencia de Saxitoxinas (SXT), dcGTX2, dcSXT3, decarbamoil saxitoxinas (dcSXT). Perfiles muy similares han sido descritos para otras cepas de *A. catenella* del sur de Chile ([Krock et al. 2007](#), [Varela et al 2012](#)). El bajo porcentaje (o ausencia) de las toxinas carbamoil (NEO y SXT) es consistente con el patr3n global encontrado para otras cepas de *A. catenella* ([Krock et al 2007](#)). El contenido de toxina mayor ($100\text{-}140\text{ fmol cel}^{-1}$) fue calculado para sistemas de agua con bajas temperaturas y alta salinidad, características encontradas en canal Moraleda. Como ha se3alado [Cembella et al. \(1987\)](#),



el contenido de toxinas paralizantes en dinoflagelados marinos puede variar en el tiempo y estar sujeto a cambios en las condiciones ambientales.

Registro de dinoflagelados de los géneros *Karenias*, *Azadinium* y *Amphidoma* en la región de Magallanes.

Durante esta etapa XII, y tal como ocurrió en la etapa pasada, la obtenci3n de muestras de agua de los estratos superficie -10 m y 10-20 m mediante muestreo con manguera para análisis cuantitativos,

permitió la identificaci3n de especies fitoplanctónicas no observadas anteriormente, particularmente especies de los géneros *Karenia*, *Azadinium* y *Amphidoma* (Fig. 5.6.14). En *Karenia* algunos de sus miembros han sido mencionados como ictiotóxicos, los cuales han provocado la muerte de peces en cautiverio en Chile y de otros diversos animales en diferentes partes del mundo ([Clément et al., 2001](#); [Li et al., 2017](#)). En Chile, la muerte de peces en el Golfo de Penas en enero de 2017, donde murieron alrededor de 130 ton de smolt de Salm3n del Atlántico (*Salmo salar*), fue uno de los últimos eventos producidos por este género de dinoflagelados, siendo esa ocasi3n atribuida preliminarmente a la especie *Karenia* cf. *mikimotoi*. Esto último, sin embargo, fue puesto en duda posteriormente luego que se identificaran mediante estudios de microscopía (fotónica y electrónica de barrido) y de métodos moleculares (PCR) otras especies de *Karenia*, tales como, *K. selliformis*, *K. bicuneiformis*, *K. cf. papilionacea*, *K. cf. brevis*, *K. cf. brevisulcata* y *Karenia* sp (Fig. 5.6.14 a–g). En la actual etapa, el Grupo *Karenias* fue identificado en las 80 estaciones (100%) monitoreadas en la regi3n de Magallanes. El registro de máxima abundancia (promedio de 11 cruceros) ocurrió en el área Magallanes Norte, principalmente en el estrato superficial (0-10 m) en período de primavera, siendo Puerto Fontaine (M21) la estaci3n con máxima abundancia (550 cél L⁻¹).

Por otro lado, además del registro del género *Karenia*, cinco dinoflagelados de la familia Amphidomataceae han sido registrados (Fig. 5.6.14 h–l). Sus características morfológicas, tales como, tamaño pequeño (8–17 µm), cíngulo ancho, presencia de pirenoides, y ocasionalmente una espina antapical, evidenciaron la presencia de los géneros *Azadinium* y *Amphidoma*. Análisis moleculares confirmaron por primera vez para aguas del sur de Chile a los productores de azaspirácidos *Azadinium spinosum* y *Azadinium poporum* y al no productor de toxinas *Azadinium obesum*. Mediante microscopía se identificó una especie de *Azadinium* hasta ahora no descrita y a *Amphidoma* cf. *parvula*. En Magallanes el Grupo *Azadinium* fue identificado en 57 (71%) de las 80 estaciones monitoreadas, registrándose la máxima abundancia promedio anual en el área Magallanes Centro, principalmente en el estrato superficial (0-10 m) y en primavera, destacando la estaci3n Segunda Angostura (M39N1) como la que presentó máxima abundancia (612 cél L⁻¹).



Respuesta a variaciones en salinidad y potencia citotóxica de *Pseudochattonella verruculosa* aislada desde el seno de Reloncaví.

Identificación molecular de *Pseudochattonella*

La secuencia de rDNA de LSU parcial de 250 pb obtenida de *Pseudochattonella verruculosa* cepa ARC498 fue idéntica a seis secuencias previamente identificadas en *P. verruculosa* (AB217643.1, AM850226.1, AM850225.1, AM850224.1, AB217642.1, AM040504.1), difiriendo de secuencias de *Pseudochattonella farcimen* por 4-5 sustituciones. Los árboles filogenéticos obtenidos a partir de estas secuencias y grupos enraizados con parientes de *Pseudochattonella* demuestran este patrón y dan una escala relativa de variación entre la cepa chilena y otras secuencias de *P. verruculosa*, así como *P. farcimen*. El árbol LSU muestra el aislamiento de la cepa de Isla Huar asociado al clado de *P. verruculosa*, aunque no como un grupo monofilético (Fig. 5.6.15).

Características morfológicas y crecimiento de los cultivos de *Pseudochattonella*

Las células mostraron una morfología variable con cambios de forma y tamaño en respuesta a los tratamientos de fase de crecimiento y salinidad. Todos los tratamientos mostraron formas celulares que van desde pequeñas células esféricas/ovaladas (4-10 μm) a cónicas alargadas (8-19 μm). Dos flagelos heterocontos siempre presentes. El flagelo más corto está orientado hacia atrás y un flagelo más largo dirigido anteriormente (12-22 μm) (Fig. 5.6.16). Los mucocistos estaban presentes principalmente en células más grandes que en células más pequeñas. Las micrografías de análisis SEM de los cultivos de *P. verruculosa* mostraron la presencia más recurrente de mucocistos en células de *P. verruculosa* a 25 psu que en células de los cultivos a 35 psu (Fig. 5.6.16).

La respuesta de *P. verruculosa* a los cambios en la salinidad fue significativamente diferente en términos de densidad celular máxima y tasa de crecimiento específica máxima (μmax) (ANOVA, $\text{df} = 4$, $p < 0.001$). La densidad celular máxima más alta entre todos los tratamientos se obtuvo a 30 psu ($84333 \pm 4833 \text{ cel mL}^{-1}$), y la más baja a 15 psu ($269 \pm 71 \text{ cel mL}^{-1}$). El μmax más alto de $1,44 \text{ d}^{-1}$ se alcanzó a 20 psu y el más bajo a 30 psu con un valor promedio de $0,88 \text{ d}^{-1}$. Las agregaciones de células multinucleadas se observaron en el fondo de los matraces durante todo el período experimental. Después de aproximadamente 15 días, algunos cultivos mostraron un crecimiento celular vegetativo que alcanzó concentraciones modestas en condiciones de agotamiento de nutrientes (datos no mostrados) (Fig. 5.6.17)

Citotoxicidad de *Pseudochattonella* en líneas celulares

La viabilidad de las células branquiales después de 1 hora de exposición a *P. verruculosa* no mostró diferencias significativas entre el sobrenadante y los tratamientos de células lisadas (ANOVA, $p > 0.05$, Fig. 5.6.18), y la actividad lítica mostró un ligero aumento junto con la densidad de células de *Pseudochattonella* a ambos niveles de salinidad. La citotoxicidad de los compuestos intra- y extracelulares de *P. verruculosa* no mostraron diferencias significativas (ANOVA, $p < 0.05$; excepto el tratamiento a 100,000 células de *Pseudochattonella* mL^{-1} a 25psu - día1; Fig. 5.6.18a) y los tratamientos a la salinidad 25 demostraron ser compuestos más potentes que los exudados obtenidos



a 35 psu, reduciendo la viabilidad de las células branquiales hasta en un 52% de los controles a 100,000 cél mL⁻¹. Los compuestos líticos de ambos tratamientos de salinidad se degradaron rápidamente en condiciones de luz, reduciendo la viabilidad de las células branquiales en menos de 20% después de 5 días de almacenamiento a 15°C (Fig. 5.6.18).

Discusión

Como *Pseudochattonella verruculosa* es una especie recientemente reportada en aguas chilenas, casi nada se sabe sobre su ecología. Este es el primer estudio que confirma formalmente la identificación taxonómica de las poblaciones chilenas de *Pseudochattonella* como *P. verruculosa* utilizando un enfoque genético y la primera evaluación del crecimiento celular *In Vitro* y la citotoxicidad.

Caracterización Molecular

Según nuestro conocimiento, esta es la primera caracterización molecular formal de una cepa de *Pseudochattonella* aislada de la floración masiva de 2016 en el Seno de Reloncaví (sur de Chile), utilizando una secuencia obtenida de la región de ADNr de LSU. Estos resultados asociaron a la cepa chilena de *P. verruculosa* (ARC498) dentro de un clado con otras cepas de *P. verruculosa* de Japón y Nueva Zelanda de acuerdo a [Chang et al \(2014\)](#) para el mismo gen. Sin embargo, deben usarse otros marcadores (18S, Rbcl, COI, ITS) para confirmar nuestra cepa chilena de *Pseudochattonella* dentro del clado de *P. verruculosa*. Esto se debe principalmente al hecho de que diferentes marcadores genéticos pueden diferir en los resultados. Por ejemplo, se encontró que una cepa de *Pseudochattonella* en el puerto de Wellington (Nueva Zelanda) es similar a la *P. verruculosa* utilizando la subunidad mayor de la ribulosa bifosfato carboxilasa (rbcl) y las secuencias parciales del ADN de LSU con codificación nuclear, mientras que las secuencias del ADN mitocondrial (COI) agrupó esta cepa como *P. farcimen* ([Chang et al., 2014](#)). Además, los datos de secuencia (no publicados) de las muestras de campo recolectadas durante la floración de 2016 han indicado la coexistencia potencial de *P. farcimen* con *P. verruculosa* en el área del fiordo patagónico (ADL Diagnostic Chile-comunicación personal). Bajo este escenario y dada la alta variabilidad morfológica ya descrita para las especies de *Pseudochattonella* ([Eckford-Soper & Daugbjerg, 2016b](#)), la descripción de los marcadores moleculares se convierte en una herramienta clave para la detección precisa de especies en las aguas chilenas. La secuencia de *P. verruculosa* descrita en este estudio tiene el potencial para el diseño de primers para PCR cuantitativo (qPCR) con el objetivo de la elaboración de una herramienta de identificación y cuantificación rápida y de bajo costo que se utiliza, por ejemplo, en muestras de campo de floraciones de *Pseudochattonella* en aguas danesas ([Eckford-Soper & Daugbjerg, 2016a](#)). En estudios futuros, el análisis de pigmento en HPLC también podría ayudar a una mejor discriminación de las especies de *Pseudochattonella*, ya que la violaxantina, la luteína y la anteroxantina solo se detectan en *P. verruculosa* ([Tomas et al., 2004](#)).

Efecto de la salinidad en el crecimiento de *Pseudochattonella*

Las altas variaciones de salinidad observadas en los sistemas estuarinos debido a la mezcla de agua o la estratificación, pueden producir alteraciones en la estructura comunitaria del fitoplancton. Estos



efectos pueden incluir (i) cambios celulares a nivel iónico debido a la permeabilidad selectiva de los iones de la membrana, (ii) estrés osmótico con impacto directo en el potencial eléctrico celular y (iii)

estrés iónico causado por la inevitable captación o pérdida de iones (Kirst, 1990). El Seno de Reloncaví (41° 35' S, 72° 20' W), que se reconoce como el 'punto caliente' para las floraciones de *Pseudochattonella* en el sur de Chile, tiene un amplio rango de salinidad que puede variar desde <10 psu en la superficie y > 30 psu en aguas profundas (Castillo et al., 2015). En nuestro estudio, la cepa ARC498 de *P. verruculosa* aislada desde el Seno de Reloncaví alcanzó altas densidades celulares entre 20 y 35 psu. En 15 psu, el crecimiento celular exponencial se retrasó 8 días en comparación con los otros tratamientos de salinidad y las densidades celulares fueron varios órdenes de magnitud menores, aunque el crecimiento positivo neto duró varios días. Estos resultados sugieren que el agua dulce en la capa superior del fiordo puede actuar como un control ambiental para el crecimiento celular de *P. verruculosa*.

La capacidad para mantener un alto y positivo crecimiento neto en un amplio rango de salinidades puede tener varias ventajas competitivas en un sistema estuarino dinámico cuando la turbulencia rompe la haloclina y dispersa verticalmente las células fitoplanctónicas a través de la columna de agua. Esta amplia tolerancia a la salinidad también se ha observado en *Dictyocha speculum* Ehrenberg (Henriksen et al., 1993). Sin embargo, se ha sugerido que el crecimiento de las microalgas depende principalmente de la temperatura y la luz, con un rango de tolerancia a la salinidad que se amplía a medida que estos parámetros se aproximan a la optimización (Kirst, 1990). Una creciente tolerancia a la alta salinidad por parte de nuestra cepa de *P. verruculosa* podría ser el resultado de condiciones óptimas *In Vitro* (20 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a 15°C) y es probable que difiera en los fiordos altamente dinámicos. Otro aspecto a tener en cuenta es que los experimentos se realizaron utilizando cepas previamente aclimatadas durante varias generaciones. Otros estudios futuros deberían evaluar el efecto de los cambios drásticos de salinidad en el crecimiento de *P. verruculosa*.

En este estudio, documentamos por primera vez las tasas de crecimiento celulares para una cepa chilena de *P. verruculosa*. Las tasas de crecimiento máximas, que oscilaron entre 0,88 y 1,44 d⁻¹, fueron mayores en comparación con las observadas por Skjelbred et al., (2011) para las cepas danesas de *P. verruculosa* (0,61 d⁻¹) e inferiores a 1,74 d⁻¹, registradas en una cepa japonesa (Yamaguchi et al., 1997). El alto μ_{max} observado en nuestro experimento podría atribuirse a una alta tasa de división celular, pero también a la presencia de agregaciones de células multinucleadas observadas en el fondo de nuestros frascos de tratamiento durante todo el experimento. Se ha sugerido que estas agregaciones masivas podrían actuar como estados de resistencia cuando las condiciones se vuelven desfavorables (Chang et al., 2014). Por lo tanto, los valores de crecimiento *in vitro* podrían haber incrementado por la entrada de células desde germinaciones provenientes de estas etapas de resistencia y también podrían apuntar a homotalismo en nuestra cepa ARC498 monoclonal.

Actividad lítica en *P. verruculosa*

Las especies del género *Pseudochattonella* han sido reportadas como altamente ictiotóxicas, con importantes pérdidas económicas para la industria salmonera chilena desde 2004 (Mardones et al.,



2012). La mayoría de los exámenes histológicos realizados en salmones afectados durante eventos de floraciones de esta microalga en Chile, generalmente diagnostican edema, hiperplasia y necrosis de las laminillas branquiales secundarias (C. Sandoval - VEHICE, comunicaci3n personal). A pesar de

esto, la investigaci3n sobre los compuestos t3xicos producidos por esta especie es incipiente y ha demostrado ser difícil.

Bioensayos utilizando líneas celulares de peces (RTgill-W1) se han utilizado ampliamente para determinar la potencia citotóxica de microalgas ictiotóxicas (Dorantes-Aranda et al., 2015). En este trabajo, hemos demostrado experimentalmente la actividad lítica de *P. verruculosa* (cepa ARC498) en las células RTgill-W1, aunque las concentraciones de *P. verruculosa* no fueran ecológicamente realistas (10,000-100,000 cél mL⁻¹), ya que mostraron una pérdida de viabilidad de los tejidos branquiales muy limitado (hasta máx. 45% de los controles). Estos resultados difieren de las observaciones de campo, por ejemplo, en 2009, donde *P. verruculosa* mostró ser extremadamente tóxica en concentraciones celulares tan bajas como 5 cél mL⁻¹ (Mardones et al., 2012). De manera

similar, Montes et al., (2018) basados en los sistemas de monitoreo de fitoplancton en Chile, estimaron que <1 cél mL⁻¹ puede asociarse con un comportamiento anómalo en salmones. Similar a estas observaciones en aguas chilenas, solo 10 cél mL⁻¹ de *P. verruculosa* han sido suficientes para causar la mortalidad del salm3n en Nueva Zelanda (MacKenzie et al., 2011). Puede existir algunas condiciones experimentales que puedan explicar nuestros hallazgos: 1) las células branquiales se expusieron brevemente a los compuestos t3xicos de *P. verruculosa* (1h) en comparaci3n con otros estudios (Mardones et al., 2015; Dorantes-Aranda et al., 2015). Mardones et al. (2015) demostraron que algunas cepas del dinoflagelado t3xico *Alexandrium catenella* fueron capaces de reducir la viabilidad de las células branquiales hasta en un 20% en relaci3n a los controles a 4,000 cél mL⁻¹ después de 2 horas de exposici3n, principalmente debido a la salida neta de K⁺ desde las células branquiales (Mardones et al., 2018). Por lo tanto, es probable que un incremento en el tiempo de exposici3n a los compuestos t3xicos de *P. verruculosa* produzca un daño más grave en el tejido de las branquias; 2) en este estudio, se analizaron compuestos líticos de los tratamientos de *P. verruculosa* contra las células branquiales después de uno y cinco días de su colecta. Este procedimiento de almacenamiento mostró que la potencia citotóxica desapareci3 rápidamente durante un período de 5 días. Por lo tanto, es probable que los exudados de *P. verruculosa* puedan ser más ictiotóxicos tan pronto como se liberen en el entorno marino circundante. Este efecto t3xico temprano se observ3 previamente en ensayos citot3xicos *in vitro* utilizando extractos de algas de especies de *Pseudochattonella* (Skjelbred et al., 2011); 3) se requieren células vivas para inducir un efecto t3xico en los peces como lo sugieren Andersen et al. (2015) y / o 4) la reducci3n de la citotoxicidad observada en las células branquiales podría deberse simplemente al hecho de que la cepa ARC498 no es altamente tóxica.

El mecanismo ictiot3xico en *Pseudochattonella* ha mostrado ser dificultoso de determinar, con el modo de acci3n aún por determinar completamente (Eckford-Soper y Daugbjerg, 2016b). En este estudio, la citotoxicidad de las células de *P. verruculosa* en tratamientos de células lisadas no mostr3 diferencias significativas con la del sobrenadante. Esto sugiere que la porci3n más lítica se libera en el medio libre



de células en lugar de permanecer unido a la célula. Estos resultados podrían llevar a una futura explicaci3n de la naturaleza de las toxinas producidas por *Pseudochattonella* y su rol en la ecología química. Conceptos antiguos se centraron en que las ficotoxinas actuaban como productos químicos defensivos contra competidores y depredadores (Smetacek, 2001). Los estudios modernos sugieren

que las ficotoxinas unidas a la célula podrían desempeñar una funci3n ecológica diferente en comparaci3n con los metabolitos t3xicos secundarios que se liberan de la célula al entorno circundante. La excreci3n de un compuesto t3xico por parte de células individuales puede tener como objetivo cesar el pastoreo por parte de un depredador móvil o producir un efecto antibiótico para reducir la colonizaci3n de microalgas por virus o bacterias (Cembella, 2003). Por ejemplo, se demostr3 que la actividad aleloquímica del dinoflagelado *Alexandrium tamarense* contra el dinoflagelado depredador *Oxyrrhis marina* no est3 relacionada con las toxinas paralíticas de los mariscos (PST) (Alpermann et al., 2010). De manera similar, Mardones et al. (2015; 2018) demostraron que las toxinas paralizantes no est3n involucradas en el daño de las branquias de los peces, sino que se sugiri3 un mecanismo ictiot3xico alternativo basado en productos de peroxidaci3n de lípidos debido a una interacci3n sinérgica entre las especies reactivas de oxígeno (ROS) y los ácidos grasos poli-insaturados (PUFA). Curiosamente, las especies de *Pseudochattonella* han mostrado altas proporciones de un raro PUFA C18: 5n-3 y C16: 1n5 y altas proporciones de ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) (Dittami y Edvardsen, 2012; Giner et al., 2008). Esto plantea una gran pregunta acerca de la posible participaci3n de un proceso sinérgico entre PUFA y ROS en la potente ictiotoxicidad observada en la cepa chilena de *P. verruculosa*. Es necesaria investigaci3n clave sobre el contenido de células PUFA, así como, la producci3n de ROS y de otros metabolitos secundarios activos por parte de esta especie de fitoflagelado.

Implicaciones ecológicas

En este estudio, los cambios en la salinidad fueron un factor importante para el crecimiento *in vitro* y para determinar cambios en la potencia ictiot3xica de *Pseudochattonella*. El crecimiento celular increment3 en condiciones de salinidad moderada-alta (30psu), lo cual coincide con las observaciones de terreno durante la masiva floraci3n de *Pseudochattonella* en 2016. El fuerte evento de El Niño 2015-2016 result3 en un verano extremadamente seco en la costa sureste del Pacífico, con un muy extremo bajo caudal de los ríos y una radiaci3n solar superior a la normal (Le3n-Muñoz et al., 2018). Estas condiciones meteorológicas extremas permitieron la advecci3n vertical de aguas salinas ricas en nutrientes (30 psu) que finalmente dieron como resultado una intensificaci3n de la floraci3n de *Pseudochattonella* que alcanz3 densidades celulares máximas de 7.700 a 20.000 cél mL⁻¹ (Clément et al., 2016; Le3n -Muñoz et al., 2018). Por lo tanto, las menores concentraciones de *Pseudochattonella* registradas en las floraciones de 2005, 2009 y 2011 podrían haber sido el resultado de columnas de agua altamente estratificadas con mayores entradas de agua dulce en la superficie. Sin embargo, esas floraciones de baja intensidad produjeron daños sustanciales en las branquias de los peces con menos de 20 cél mL⁻¹, lo que sugiere el importante efecto de la baja salinidad (20-25 psu) en el incremento de la potencia ictiot3xica.



Si bien el evento de El Niño 2015-2016 a gran escala produjo cambios evidentes en la estructura halina de la columna de agua en el Seno de Reloncaví, es importante destacar que también se debe importantes cambios en $p\text{CO}_2/\text{pH}$ y a la composición/disponibilidad de nutrientes, entre otras variables. [Mardones et al. \(2016\)](#) mostraron que las fluctuaciones espacio-temporales de $p\text{CO}_2/\text{pH}$ en los fiordos chilenos pueden afectar fuertemente las respuestas fisiológicas de *A. catenella*. Se observaron cambios fisiológicos, como una reducción del tamaño celular y un incremento en la formación de cadena a pH alto/ bajo $p\text{CO}_2$ (es decir, condiciones de florecimiento de fitoplancton). Por otro lado, la entrada de aguas marinas ricas en nutrientes inorgánicos (es decir, NO_3^-) versus aguas interiores, altamente influenciadas por nutrientes orgánicos (es decir, NH_4^+) debido a la intensa acuicultura, podría haber contribuido a cambios en la composición de la comunidad de fitoplancton por diferencias en las proporciones NH_4^+ y NO_3^- lo cual afecta el metabolismo específico de un taxón. El rol de estas variables químicas es clave en la dinámica de las floraciones de *Pseudochattonella* y se debe evaluar en futuros experimentos.

Finalmente, las altas densidades celulares obtenidas en nuestros experimentos *in vitro* ($>80.000 \text{ células mL}^{-1}$) versus recuentos de campo, reflejan la dificultad en la identificación de células de *Pseudochattonella* mediante microscopía óptica. El complejo ciclo de vida de *Pseudochattonella*, que incluye etapas flageladas muy pequeñas y grandes agregaciones multinucleadas ([Chang et al., 2014](#);

este estudio), probablemente condujo a una identificación errónea y a subestimaciones en el recuento de células en el bloom de *Pseudochattonella* en 2016. Por lo tanto, el advenimiento de enfoques moleculares se convierte en una herramienta importante para mejorar la efectividad de los programas de monitoreo.

En conclusión, el presente trabajo ha confirmado formalmente la presencia de *P. verruculosa* en aguas chilenas, así como también mostró el efecto de la salinidad sobre el crecimiento celular y la potencia ictiotóxica de la especie. En general, las altas tasas de crecimiento celular salinidad moderada-alta podrían explicar la masiva floración registrada en 2016. El aumento de la citotoxicidad en *P. verruculosa* en condiciones de baja salinidad puede ser importante para comprender las propiedades ictiotóxicas de las cepas chilenas en condiciones oceanográficas altamente variables, como las que ocurren en la costa sur de Chile. Aún permanece pendiente la comprensión del rol de los mucocistos, así como también, la producción de PUFA, ROS y/u otros metabolitos secundarios que pudieran explicar la ictiototoxicidad de las cepas chilenas de *P. verruculosa*.

Identificación molecular de los dinoflagelados *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii*.

De la totalidad de los marcadores diseñados, solo 2 mostraron su especificidad para las especies *A. catenella* y *A. ostenfeldii*, donde se obtuvo un fragmento de 250 pares de bases el cual fue comparado con la base de datos en NCBI, arrojando un porcentaje de similitud del 99% para *A. catenella* y 98% para *A. ostenfeldii*. Una vez establecida la especificidad, se realizó una qPCR usando diluciones seriadas en diferentes cepas de *A. catenella* y *A. ostenfeldii* para determinar la eficiencia de los



partidores (Fig.5.6.19). Esta mostró una eficiencia cercana a -3.3 y un r^2 de 0.99 para ambas especies (Fig.5.6.19), además la transformación logarítmica de la curva de PCR permitió la realización de una curva de melting (T_m), lo cual indica la presencia de solo un fragmento específico para los marcadores diseñados (Fig.5.6.19b).

Una vez determinada la eficiencia de la PCR y su especificidad, se realizó un ensayo usando diferentes concentraciones celulares de *A. catenella* y *A. ostenfeldii* provenientes de muestras de cultivo en

concentraciones de 20-100-200-500-2500 cél mL⁻¹. Los resultados obtenidos mostraron la eficiencia de los partidores en la detección de las especies objetivo bajo diferentes concentraciones (Fig. 5.6.20). Los niveles de detección varían entre ambas especies, sin embargo, se observó una directa correlación entre el número de células por mL y los niveles de expresión relativa del fragmento del gen 28S usando los marcadores especie específicos, donde los menores niveles de expresión fueron detectados a 20 cél mL⁻¹ y los máximos niveles en concentraciones mayores a 500 cél mL⁻¹, lo cual comprueba la especificidad de la PCR en muestras de cultivo.

Posterior a la determinación de los límites de detección en muestras de cultivo, los marcadores fueron testeados en muestras de terreno obtenidas del programa de vigilancia durante el mes de febrero del 2019 (Fig.5.6.21). Los resultados mostraron una discordancia entre los niveles de abundancia relativa obtenidos por microscopia con los niveles de detección obtenidos por ensayo de qPCR en ambas especies, sin embargo, cuando las densidades celulares se encuentran entre los niveles 3 y 6 en la escala de abundancia relativa, la detección por qPCR muestra mayor sensibilidad comparado cuando los niveles de AR son bajos. Las diferencias en los niveles de detección basados en qPCR en muestras de ambiente pueden deberse a que los marcadores diseñados no son cien por ciento específicos para las especies objetivos, por lo que pueden amplificar regiones genómicas similares en otras especies. Para dilucidar esto se creó una sonda TaqMan específica para el producto de PCR secuenciada en *A. catenella* y *A. ostenfeldii*, lo cual permitirá detectar los niveles de abundancia de las especies objetivos con mayor precisión, sin embargo, la validación de esta sonda debe ser testada bajo diferentes concentraciones en muestras de cultivo antes de validar en muestras de terreno.

Quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos de Los Lagos, Aysén y Magallanes

Dentro del fitoplancton marino el grupo de los dinoflagelados es considerado uno de los más importantes dado que varias de sus especies forman floraciones algales nocivas (FANs) y algunas de ellas, además, forman quistes de resistencia bentónicos durante su ciclo de vida. La formación de este tipo de células es de gran relevancia para comprender la dinámica y la ecología de las floraciones microalgales debido a que les permite a las especies alternar entre los hábitats planctónico y bentónico (Anderson, 1998). Los quistes de resistencia son células formadas por la fusión de gametos en la fase sexual del ciclo de vida de algunos dinoflagelados, y se caracterizan, principalmente, por presentar un período de dormancia obligatoria (período que va de días a meses dependiendo la especie y la cepa) y por poseer paredes gruesas y resistentes que les permiten soportar condiciones altamente adversas (e.g. anoxia, bajas temperaturas y oscuridad) en los sedimentos. Una vez cumplido este período de dormancia, y si las condiciones ambientales son favorables para la especie, el quiste germinará y



podrá re-establecer la poblaci3n móvil (McQuoid et al., 2002; Ellegaard & Ribeiro, 2018). Dado que en los sedimentos marinos los quistes pueden permanecer viables por largos períodos de tiempo (incluso un siglo; Ribeiro et al., 2011), el estudio de este tipo de células es de gran importancia ya que entrega informaci3n sobre la distribuci3n geográfica de las especies, y sobre floraciones que ocurrieron en el pasado al registrar altas abundancias de quistes. Adicionalmente, los quistes permiten obtener informaci3n relevante respecto de especies planctónicas que pueden ser pasadas por alto en programas de monitoreos, especies que son difíciles de identificar por su similitud morfológica, o que son frágiles o presentan un período corto en su fase vegetativa haciéndolas difícil de pesquisar. Por

otro lado, la presencia y la correcta identificaci3n de quistes de especies productoras de toxinas en sedimentos es fundamental para iniciar o robustecer programas de monitoreo en zonas donde no se conocía su presencia, pudiendo entregar informaci3n relevante sobre eventos de proliferaciones ocurridas en décadas pasadas cuando se estudian columnas sedimentarias.

Durante esta etapa, se registró la diversidad y abundancia de quistes de dinoflagelados en 18 muestras de sedimento superficial obtenidas entre las regiones de Los Lagos y Magallanes, permitiendo de esta forma identificar áreas con presencia de especies nocivas e/o inocuas. De las muestras analizadas, el 100% de ellas fue positiva para presencia de quistes. Un total de 63 morfotipos distintos fueron registrados en toda el área de estudio (Figs. 5.6.22 – 5.6.25), representando 15 géneros (*Alexandrium*, *Protoceratium*, cf. *Lingulodinium*, *Gonyaulax*, *Pentapharsodinium*, *Scrippsiella*, *Dissodinium*, *Archaeoperidinium*, *Echinidinium*, *Protoperidinium*, *Polykrikos*, *Preperidinium*, *Diplopsalopsis*, cf. *Enciculifera*, y *Niea*) y 22 quistes no identificados. Se presentan aquí por primera vez para el sur de Chile quistes de dinoflagelados que no han sido previamente reportados: *Pentapharsodinium tyrrhenicum*, *Disodinium pseudolunula*, *Echinidinium aculeatum*, *Protoperidinium nudum*, *Protoperidinium tricingulatum*, dos tipos de *Polykrikos*, *Diplopsalopsis ovata*, cf. *Enciculifera carinata* y *Niea acanthocysta*.

La regi3n de Los Lagos presentó un total de 2771 quistes y 36 morfotipos distintos, siendo Pichicolo (L06N3) la estaci3n con mayor diversidad (n=20) y mayor abundancia (2277 quistes $\times$ cm⁻³ de sedimento húmedo, s.h.); Aysén por su parte presentó un total de 7509 quistes y 38 morfotipos, donde Seno Canalad (A18N2) obtuvo la mayor diversidad (n=25) y mayor abundancia (4087 quistes $\times$ cm⁻³ s.h.), y Magallanes con un total de 8892 quistes y 43 tipos morfotipos distintos, siendo la estaci3n Bahía Liberta (M05) la que presentó mayor diversidad (n=22) y Bahía Ensenada (M18) la de mayor abundancia (2960 quistes $\times$ cm⁻³ s.h.). En Los Lagos la especie más abundante fue *Archaeoperidinium minutum* (ex *Protoperidinium minutum*), mientras que en Aysén fue *Protoceratium reticulatum*, y en Magallanes *Protoperidinium conicoides* (Fig. 5.6.22 c,n,r).

Respecto a la presencia de quistes de especies nocivas en el área de estudio, un total de 3 especies fueron identificadas (Fig. 5.6.22 a–c), el dinoflagelado *Alexandrium catenella*, productor de toxinas paralizantes, *Alexandrium ostenfeldii*, productor de toxinas paralizantes y toxinas lipofílicas de los tipos espiróidos y gimnodiminas, y *Protoceratium reticulatum*, productor de yesotoxinas. De acuerdo a su distribuci3n y abundancia por regi3n, en Los Lagos se registraron quistes de *A. catenella* (1 de 4 estaci3nes; 25%) y *P. reticulatum* (3 de 4 estaci3nes; 75%), hallándose los quistes de *A. catenella* (4



quistes $\times \text{cm}^{-3}$ de s.h.) en Asasao (L22), y la mayor abundancia de *P. reticulatum* en Pichicolo (L06N3) (27 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ de s.h.). En Aysén y Magallanes fue posible identificar a las tres especies nocivas. En Aysén el registro de quistes de *A. catenella* (3 de 5 estaciones; 60%) mostr3 que las m3s altas abundancias se encontraron en las estaciones Seno Canalad (A18N2) y Seno Medio (A18N3) (459 y 560 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ s.h., respectivamente); *A. ostenfeldii* (2 de 5 estaciones; 40%) alcanz3 su m3xima abundancia en Seno Ventisquero 2 (A19N2) (16 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ s.h.) y *P. reticulatum* (4 de 5 estaciones positivas; 80%) destacando en Seno Canalad como el lugar con mayor abundancia (2849 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ de s.h.). En Magallanes, *A. catenella* y *A. ostenfeldii* se presentaron solo en Bahía Bell (M33) y Estero Wickham (M26), respectivamente (1 de 7 estaciones positivas; 14.2%), ambas con una baja abundancia (11 y 12 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ s.h., respectivamente), mientras que *P. reticulatum* (4 de 7 estaciones; 57.1%), a diferencia de los anteriores, fue registrada con una alta abundancia en Estero Wickham (912 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ de s.h.).

5.7. Objetivo Específico 7:

Mantener la distribuci3n de la informaci3n generada por el programa orientada a la autoridad y a todo p3blico

Sistema de distribuci3n de la informaci3n.

Redes sociales

Durante esta etapa, se ha continuado el trabajo a trav3s de redes sociales (Facebook y Twitter) con el objetivo de mantener a una comunidad informada con respecto a temas nacionales e internacionales de las Floraciones de Algas Nocivas (FANs). Los resultados generados por el grupo de Marea Roja (Monitoreo, charlas, congresos, publicaciones), son informados a trav3s de estas plataformas.

Aplicaci3n para tel3fonos m3viles – i~FAN.

La principal informaci3n entregada a trav3s de nuestra App (i~FAN) es el estado de la abundancia relativa de *A. catenella* en todas las estaciones del Programa de Monitoreo de Marea Roja (desde seno de Reloncaví hasta el estrecho de Magallanes). A trav3s de mensajes “push”, se notifica a los usuarios de la App cuando las abundancias relativas son actualizadas para cada una de las zonas de Chiloé (norte, centro y sur), Aysén (norte, sur y Tortel) y Magallanes (norte, centro y sur). De esta manera, el usuario podr3 visualizar en “Estados de Alerta”, la abundancia relativa de *A. catenella* a trav3s de un sem3foro, los cuales indican:

- **Situaci3n de Ausencia** (sem3foro blanco). La microalga no est3 presente en el agua.
- **Situaci3n Normal** (sem3foro verde). Los niveles de abundancia son bajos y no representan riesgos.
- **Precauci3n Moderada** (sem3foro amarillo). Los niveles de abundancia son intermedios, no representan alto riesgo, pero hay que estar atentos a la evoluci3n de la Floraci3n.
- **Alerta Temprana** (sem3foro naranja). Los niveles de abundancia son altos y potencialmente presentarían riesgo si se mantienen en el tiempo.



- **Situación de Riesgo** (semáforo rojo). Los niveles de abundancia son muy elevados y representan riesgo.

Por otra parte, se entrega información complementaria para dar a conocer aspectos básicos de las Floraciones de Algas Nocivas, a través de preguntas tales como: ¿Qué es una Floración de Algas Nociva?, ¿Qué significa microalga?, ¿Qué puedo comer con seguridad?, ¿Por qué se trabaja tanto en Chile el tema de las Mareas Rojas?, ¿Qué síntomas causan las toxinas de los mariscos?, ¿Hay antidotos para los Venenos?, etc. A través de imágenes de especies de microalgas asociadas a intoxicaciones (e.g. *Alexandrium catenella*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*), se trata de acercar a las comunidades a conocer que hay a nivel microscópico en el agua.

Finalmente, en la sección de “Noticias”, se comparte información de la SEREMI de Salud, con respecto a cierres o aperturas de áreas afectadas por Marea Roja, informes semanales del Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de Chile, y los reportes técnicos elaborados por el Centro de Estudios de Algas Nocivas que abarca los subprogramas de alta (Fiscalización y Vigilancia) y baja frecuencia (Regular), además de reportes especiales cuando las abundancias relativas con muy altas en determinadas zonas.

Boletines Técnicos.

A través de la página del Instituto de Fomento Pesquero (www.ifop.cl), se distribuye la información a través de boletines técnicos que entregan información sobre:

Ejercicios de Dispersión. Se realiza un ejercicio de dispersión construido en el software MIKE3, cuando los estimadores de AR superan el nivel 5 en más de tres estaciones de muestreo de un sector determinado. Este modelo utiliza datos batimétricos, mareas y vientos pronosticados. Las partículas dispersadas corresponden a un flujo constante de partículas lanzadas a 5m de profundidad las cuales no sedimentan, ni decaen. La finalidad de este ejercicio es poder pronosticar la dirección y dispersión del flujo de partículas desde puntos específicos (focos de dispersión) para un periodo determinado de días.

Reportes Especiales. Los reportes especiales corresponden, al igual que el anterior, a los datos de AR generados mensualmente por el monitoreo regular, con la diferencia que estos corresponden a un sector específico de los 9 mencionados anteriormente. Se genera este tipo de reporte cuando en este sector se encuentran elevados niveles de AR y es necesario informar y elaborar con anticipación al resto de sectores para generar la alerta temprana correspondiente. La estructura es exactamente la misma que la descrita para el reporte del Monitoreo Regular.

Reportes Periódicos. Corresponden a los reportes elaborados para los datos de AR de la especie *Alexandrium catenella* los cuales son generados por los Sub-programas de Vigilancia y Fiscalización y Raúl Marín Balmaceda (Alta Frecuencia), los cuales tienen una periodicidad de muestreo de aproximadamente 10 días en 23 estaciones de los siguientes sectores: sur de Chiloé, norte de Aysén



(Melinka) y Raúl Marín Balmaceda (estero Pitipalena). Posee la misma estructura que los reportes antes mencionados.

Monitoreo Regular. El reporte del Monitoreo Regular corresponde a los datos de Abundancia Relativa (AR) para la especie *Alexandrium catenella* generados mensualmente para la totalidad de estaciones de cada una de las tres regiones (Los Lagos, Aysén, Magallanes), las cuales están además subdivididas en tres sub-zonas (Los Lagos: norte, centro y sur; Aysén: norte, sur y Tortel; Magallanes: norte, centro y sur), incorporándose simultáneamente los datos de cada uno de los tres sectores. Se incluye en este reporte mapas de AR por cada estación de muestreo, semáforo de alerta y descripción del estado de la floración, datos oceanográficos para cada zona e imágenes satelitales de temperatura superficial del mar.

Cada uno de los reportes puede ser descargado directamente desde la página, o bien desde nuestras redes sociales de Facebook o Twitter.

Acciones de difusión, capacitación y educación.

Charlas y actividades colaborativas

Durante el año 2018, se realizaron 8 charlas de Difusión (Conversando sobre Mareas Rojas), en las cuales se trabajó con niños de enseñanza básica, media y pescadores artesanales. La dinámica radica en una “Dinámica de Grupo”, en la cual un “Facilitador” ayuda a que el grupo comparta experiencias y se realice una actividad colaborativa. Se revisaron aspectos generales tales como Concepto de FAN, Microalgas y Transvectores. Se continúa con una dinámica denominada “Torbellino de Ideas”, donde cada asistente debe indicar en sólo una palabra que es lo que piensa cuando le preguntan sobre Mareas Rojas o FANs, lo cual ayuda a construir una plataforma para poder continuar con una discusión socializada (interacción dinámica).

Videos de corta duración

Se desarrollaron 3 videos (2 minutos aprox.) los cuales serán utilizados como material de apoyo en futuras actividades de Difusión del Programa de Marea Roja. Los temas trabajados fueron:

- 1. Plancton Marino.**

Carbonell, P., L. Guzmán, R. Martínez, G. Fuenzalida, E. Cascales, J. Mardones. El principal objetivo es dar a conocer qué es el Plancton, con énfasis en el fitoplancton (diatomeas y dinoflagelados), procesos asociados (ej. fotosíntesis) y factores asociados a una Floración.



2. Floraciones de Algas Nocivas.

Carbonell, P., L. Guzmán, L. Iriarte, L. López, J. Mardones. Floraciones de Algas Nocivas. Se da a conocer conceptos, condiciones propicias para el desarrollo de una FANs, duración y distribución espacial.

3. Toxinas Marinas en Chile.

Carbonell, P., L. Guzmán, G. Labra, L. Iriarte, V. Muñoz, L. López, G. Pizarro, C. Alarcón, H. Pacheco, C. Toro. Toxinas Marinas en Chile. Se da a conocer las principales toxinas marinas en Chile, junto a sus efectos y distribución.

5.8 Objetivo Específico 8:

Realizar un taller de presentación de resultados (mayo 2006 – febrero 2019), con énfasis en los resultados obtenidos durante la etapa XII, sin perjuicio de comprometer la presentación de trabajos indistintamente en seminarios, congresos, conferencias, simposios y/o publicación de artículos científicos

El taller se realizó el día martes 14 de mayo del 2019 entre las 08:30 – 13:00 h en la ciudad de Puerto Montt. En esta oportunidad, el taller contó con un total de 10 presentaciones, cada una con un tiempo estimado de 15 minutos de duración siendo divididas en dos bloques con las diferentes líneas de trabajo que están siendo desarrolladas en el Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) abarcando las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. La invitación fue abierta tanto a autoridades, investigadores (Anexo 9).



6. CONCLUSIONES

Distribución de toxinas en la macroregión sur-austral, Etapa XII.

- Las toxinas paralizantes mostraron altas concentraciones en la región de Aysén, y en menor grado en la región de Los Lagos y Magallanes. Para toxinas lipofílicas, la mayor cantidad de muestras positivas fueron para la región de Aysén, y en menor grado para la región de Los Lagos y Magallanes. La toxina amnésica no fue detectada en ninguna de las regiones monitoreadas.

Análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de la especie *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii* para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

- Durante el periodo comprendido entre Marzo del 2018 a febrero del 2019 no se registraron grandes floraciones de *A. catenella* en las regiones de los Lagos y Magallanes, salvo periodos puntuales donde los estimadores de AR no superaron el nivel 6 (extremadamente abundante). Esto se puede observar durante el periodo diciembre 2018 a febrero 2019 en la zona sur de Chiloé y en el periodo de octubre en la zona norte de Magallanes y Canal Beagle.
- Las mayores floraciones se observaron en la región de Aysén, principalmente en el periodo de primavera-verano y con una mayor intensidad en la zona de Aysén Sur donde alcanzaron niveles de AR entre 7 (hiper abundante) y 8 (ultra abundante).
- *A. ostenfeldii* estuvo presente durante todo el periodo de muestreo en las regiones de Los Lagos y Aysén, y en menor medida en la región de Magallanes. Sin embargo no se registraron grandes floraciones de esta especie en ninguna de las regiones, salvo en casos y sectores puntuales donde se registraron niveles de 6 (extremadamente abundante) en la escala de AR. Estos casos puntuales fueron: durante el mes de octubre del 2018 en la zona norte de Magallanes y canal Beagle, y durante el periodo de enero-febrero del 2019 en la zona de Chiloé Sur y Norte de Aysén.

Análisis descriptivo de la Abundancia relativa de las especies *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta* y *Protoceratium reticulatum* para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

- Las tres especies de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, presentaron patrones de distribución latitudinal fuertemente marcados.
- *Dinophysis acuminata* se detectó casi exclusivamente en la Región de Los Lagos, mientras que *D. acuta* y *P. reticulatum* tienden a florecer principalmente en la Región de Aysén. La Región de Magallanes se presenta como un área de baja recurrencia de estos tres taxones.



- El patrón de distribución espacio-temporal analizado para el año 2018, sigue la tendencia observada para estas especies en la última década de muestreo.

Análisis descriptivo de la Abundancia relativa de las especies *Pseudo-nitzschia cf. australis*, *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* para el periodo comprendido entre marzo del 2018 a febrero del 2019 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

- Tanto *Pseudo-nitzschia australis* como *P. cf. pseudodelicatissima* presentaron una amplia cobertura espacial y temporal. En la región de Aysén se presentaron las AR más altas de ambas especies durante todo el año, no así en la región de Los Lagos y Magallanes, donde las AR estuvieron sujetas a cambios temporales, disminuyendo en época otoño-invierno.

Configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total durante el periodo marzo de 2018 a febrero de 2019.

- Los resultados obtenidos durante esta etapa, comparados con los análisis de etapas anteriores del proyecto, mostraron una consistencia tanto espacial como en la estructura fitoplanctónica en los diferentes ensambles formados a partir del análisis de conglomerados.
- El fitoplancton cuantitativo del área de estudio, desde la región de Los Lagos hasta la región de Magallanes, presenta una clara ordenación espacial, con configuraciones propias para cada región de estudio, lo que podría explicarse por la variabilidad ambiental que se registra en cada una de las regiones y de forma más específica a la variabilidad aportada por canales y fiordos, así como por zonas más oceánicas del área de estudio.

Primer análisis general de la base datos de nutrientes entre el 2017 y 2018.

- La distribución vertical de los nutrientes (fosfato y nitrato) presentó una estructura estratificada, con menores concentraciones en el estrato 0-10 m que para el estrato 10-20m. Para silicatos fueron mayores para el estrato 0-10m.
- La distribución horizontal en las concentraciones de nitrato, fosfato y Silicatos en el estrato 0-10m, presentaron un patrón latitudinal con un marcado gradientes de la región de Los Lagos a la región de Magallanes.
- La distribución espacial de nutrientes para el año 2018, son un 10% más altas que para el año anterior, en las tres regiones.
- Las mayores concentraciones de nitrato se presentaron en los meses de invierno, al igual que las concentraciones de fosfato. Sin embargo, para silicatos las concentraciones fueron mas altas en los meses de primavera verano



Modelaci3n numérica.

- La evaluaci3n del modelo para la distribuci3n y abundancia de *Alexandrium catenella*, durante una etapa de transici3n invierno – primavera, fue bueno en aquellas estaciones que presentaron niveles de altos de concentraci3n de esta microalga, reproduciendo la tendencia en términos de densidad. En el resto de las estaciones evaluadas, donde la densidad de esta microalga es baja, el ajuste entre los datos observados y los modelados es baja.
- La evaluaci3n cualitativa del modelo biogeoquímico mostr3 una buena representaci3n de las tendencias de distribuci3n tanto del oxígeno disuelto como de los nutrientes reproduciendo los valores asociados a las distintas masas de aguas presentes en la zona de estudio.

Análisis de patrones climáticos de gran escala y su relaci3n con FANs en fiordos y canales del sur de Chile de las regiones de Los Lagos y Aysén.

- Este es el primer estudio que se realiza para observar el efecto de patrones climáticos de gran escala en el sistema completo de canales y fiordos del sur de Chile. Sin embargo, y a pesar que nuestras series de tiempo aún siguen siendo muy cortas para establecer relaciones directas, si podemos observar ciertos patrones que emergen de este estudio.
- Nuestros resultados indican que las respuestas a estos patrones a gran escala no siempre son consistentes y est3n sujetas a diferentes factores dependiendo de la latitud y el área donde se ubican las estaciones de muestreo, sin embargo, en ciertos sectores (con influencia oceánica directa) se puede apreciar una clara relaci3n entre las floraciones de *A. catenella* y estos eventos climáticos de gran escala.
- La combinaci3n de los efectos de cada uno de estos eventos climáticos de gran escala pueden explicar de mejor forma las respuestas que tienen las comunidades fitoplanctónicas en altas latitudes que si estudiáramos y estableciéramos relaciones de cada uno de los eventos climáticos por separado.

Abundancia del micro-fitoplancton y *Alexandrium catenella*, en relaci3n con los índices climático-oceanográficos en la regi3n de Magallanes, Chile: periodo 1997-2017.

- Los resultados est3n confirmando un factor desencadenante a gran escala que regula las distribuciones de *A. catenella* y su abundancia, pero los factores temporales locales y a corto plazo parecen influir fuertemente en esta distribuci3n.
- Como ejemplo dentro de este contexto, las anomalías estandarizadas anuales de la presi3n atmosférica, estuvieron significativamente correlacionadas con las respectivas anomalías de AR de *A. catenella* de las diferentes áreas geográficas, así como con las de los sitios representativos de éstas. En tanto las anomalías anuales estandarizadas del índice AAO estuvieron significativamente correlacionadas con las anomalías estandarizadas trimestrales de AR de *A. catenella* de sólo algunos de sitios representativos de cada área.



- Los resultados est1n de acuerdo con la escala de los tipos de clima sin3pticos y los patrones clim1ticos en la Patagonia austral como los descritos por Weidemann et al. (2018), hip3tesis que requiere ser abordada con mayor an1lisis.
- Tambi3n, otros an1lisis requieren ser realizados en el futuro pr3ximo, como es considerar los trimestres desde diciembre del a1o anterior (no desde enero como se realiz3 en este estudio) y promedios mensuales por 1rea y sitio de muestreo en las estimaciones de las respectivas anomal1as de 1ndices globales clim1ticos y las variables aqu1 consideradas.
- Finalmente, es destacable mencionar que las diferentes 1reas geogr1ficas consideradas (N, C, y S) parecen comportarse diferente de acuerdo a la intensidad de los eventos de floraciones y toxicidad en los moluscos y escala espacial que cubren dichos eventos. No obstante, los resultados tambi3n reflejan el efecto de procesos de menor escala espacial como grado de exposici3n oce1nica de los sitios de muestreo, influencia de masas de agua que incursionan al interior de canales y fiordos e influencia de deshielos y escorrent1a fluvial en los fiordos, resultados que coinciden con lo reportado por Paredes et al., (2014).

Cobertura geogr1fica de dinoflagelados productores de toxinas lipof1licas y paralizante durante los 1ltimos 20 a1os en el ecosistema de fiordos y canales sub-ant1rticos.

- Los resultados sugieren una dispersi3n hacia el sur, de las tres especies de microalgas productoras de toxinas lipof1licas, un aumento de la intensidad (>AR) y un aumento de la cobertura geogr1fica dentro de los l1mites de la regi3n de Magallanes.
- Contrario a la fase vegetativa de *A. catenella*, no existe certeza que las microalgas productoras de toxinas se hayan expandido desde latitudes m1s bajas, *i.e.* regiones de Ays3n o Los Lagos. Estas especies ya se encontraban presentes en la regi3n de Magallanes, cuando inici3 el monitoreo (1994-1997).
- Los resultados sugieren la hip3tesis que la actual distribuci3n e intensidad de las floraciones de *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, parecen responder eficientemente a cambios naturales del ambiente que les son favorables para su crecimiento y permanencia espacio-temporal, especialmente en el caso de *D. acuminata*, cuyo porcentaje de presencia entre 2012 y 2017 alcanz3 en promedio un $83\pm5\%$ y un porcentaje de cobertura geogr1fica del 100% desde 2013.

Contenido y perfil de toxinas en poblaciones naturales de *Alexandrium catenella* en canales del sur de Chile.

- El perfil de toxinas presentada en poblaciones naturales de *A. catenella* mostraron una composici3n dominante en toxinas carbamoil (GTX1, 2, 3 y 4) y sulfocarbamoil (C2), pero no en an1logos con mayor toxicidad, como Saxitoxina (SXT) o decarbamoil saxitoxinas (dcSXT). Condiciones oceanogr1ficas (temperatura y salinidad), pueden incidir sobre el contenido de toxinas (fmol cel⁻¹) en poblaciones naturales de este dinoflagelado.



Registro de dinoflagelados de los géneros *Karenias*, *Azadinium* y *Amphidoma* en la región de Magallanes.

- Se identifica en el sur de Chile mediante microscopía y técnicas moleculares (PCR) la presencia de los dinoflagelados *Karenia* cf. *mikimotoi*, *K. selliformis*, *K. bicuneiformis*, *K. cf. papilionacea*, *K. cf. brevis*, *K. cf. brevisulcata* y *Karenia* sp.
- El grupo *Karenias* se encuentra distribuido en las áreas norte, centro y sur de la región de Magallanes, siendo en el área norte donde se registran las máximas abundancias en el estrato superficial (0-10 m) durante primavera.
- Dentro de la familia Amphidomataceae (géneros *Azadinium* y *Amphidoma*) se confirma mediante PCR la presencia de los productores de toxinas azaspirácidos *Az. spinosum* y *Az. poporum*.
- El grupo *Azadinium* se encuentra con mayor abundancia en Magallanes centro en el estrato superficial (0-10 m) durante la época de primavera.

Respuesta a variaciones en salinidad y potencia citotóxica de *Pseudochatonella verruculosa* aislada desde el seno de Reloncaví.

- En conclusión, el presente trabajo ha confirmado formalmente la presencia de *P. verruculosa* en aguas chilenas, así como también mostró el efecto de la salinidad sobre el crecimiento celular y la potencia ictiotóxica de la especie. En general, las altas tasas de crecimiento celular salinidad moderada-alta podrían explicar la masiva floración registrada en 2016. El aumento de la citotoxicidad en *P. verruculosa* en condiciones de baja salinidad puede ser importante para comprender las propiedades ictiotóxicas de las cepas chilenas en condiciones oceanográficas altamente variables, como las que ocurren en la costa sur de Chile. Aún permanece pendiente la comprensión del rol de los mucocistos, así como también, la producción de PUFA, ROS y/u otros metabolitos secundarios que pudieran explicar la ictiototoxicidad de las cepas chilenas de *P. verruculosa*.

Identificación molecular de los dinoflagelados *Alexandrium catenella* y *Alexandrium ostenfeldii*.

- Se desarrollaron marcadores moleculares para los genes ribosomales 18S y 28S en las especies *A. catenella* y *A. ostenfeldii*, los cuales amplifican regiones específicas en las especies objetivos.
- La validación mediante qPCR de los partidores diseñados permite la detección de células en concentraciones entre 20 y 2500 células por ml en muestras provenientes de cultivo monoclonal en ambas especies.
- Hasta el presente la detección de células en muestras provenientes de terreno no es cien por ciento eficiente debido principalmente a la detección de falsos positivos, por lo que se están



diseñando sondas Taqman para incrementar aún más la especificidad de los marcadores diseñados anteriormente.

Quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos de Los Lagos, Aysén y Magallanes

- Mediante el estudio de quistes de dinoflagelados en sedimentos, un total de 63 morfotipos de quistes distintos fueron registrados entre las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.
- Se identifica por primera vez en el sur de Chile los quistes de las especies *Pentaparsodinium tyrrhenicum*, *Disodinium pseudolunula*, *Echinidinium aculeatum*, *Protoperidinium nudum*, *Protoperidinium tricingulatum*, dos tipos de *Polykrikos*, *Diplopsalopsis ovata*, cf. *Ensiculifera carinata* y *Niea acanthocysta*.
- Se identifica en el área de estudio la presencia de quistes de resistencia de los dinoflagelados productores de toxinas *Alexandrium catenella* (Los Lagos, Aysén y Magallanes), *Alexandrium ostenfeldii* (Aysén y Magallanes), y *Protoceratium reticulatum* (Los Lagos, Aysén y Magallanes).
- La presencia de quistes en sedimentos indicaría que la especie productora de toxinas con mayor cobertura geográfica en el área de estudio es *P. reticulatum*, luego *A. catenella* y en último *A. ostenfeldii*.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. 1990. Paralytic shellfish poison. Biological method. Sec. 959.08. pp. 881-882 En: Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA.

Akselman R., B. Krock, T. Alpermann, U. Tillmann, M. Borel, G. Almandoz & M. Ferrario. 2015. *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae) in the Austral Southwestern Atlantic and the first report on YTX-production in shelf waters of Argentina. *Harmful Algae* 45: 40-52.

Alpermann, T.J., Tillmann, U., Beszteri, B., Cembella, A.D., John, U. 2010. Phenotypic variation and genotypic diversity in a planktonic population of the toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 46, 18-32.

Álvarez, G., E. Uribe, R. Díaz, M. Braun, C. Mariño & J. Blanco. 2011. Bloom of the Yessotoxin producing dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae) in Northern Chile. *J. Sea Res.* 65: 427-434.

Alves de Souza, C., D. Varela, F. Navarrete, P. Fernández & P. Leal. 2008. Distribution, abundance and diversity of modern dinoflagellate cyst assemblages from southern Chile (43-54° S). *Botanica Marina* 51: 399-410.

Andersen, N.G., Hansen, P.J., Engell-Sørensen, K., Nørremark, L.H., Andersen, P., Lorenzen, E., and Lorenzen, N. 2015. Ichthyotoxicity of the microalga *Pseudochattonella farcimen* under laboratory and field conditions in Danish waters. *Dis. Aquat. Organ.* 116, 165-172.

Anderson, D.M., D.M. Kulis, J.J. Sullivan and S. Hall. 1990. Toxin composition variations in one isolate of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *Toxicon* 28(8): 885-893.

Anderson D.M. 1998. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. In: Anderson, D.M., A.D. Cembella & G.M. Hallegraeff (eds.), *Physiological Ecology of harmful Algal Blooms*, NATO ASI Series, Vol G 41, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Anderson, D. 2004. Prevention, Control and Mitigation of Harmful Algal Blooms: Multiple Approaches to HAB Management. In *Harmful Algae Management and Mitigation, 2004*. Hall, S., Etheridge, S., Anderson, D., Kleindinst, J., Zhu, M and Zou, Y. (Eds). Asia-Pacific Economic Cooperation (Singapore): APEC Publication #204-MR-04.2 p. 123 - 130.

Anderson D., A. Cembella & G. Hallegraeff. 2012. Progress in understanding Harmful Algal Blooms (HABs): Paradigm shifts and new technologies for research, monitoring and management. *Annual Review of Marine Science* 4: 143-176.

Anisimova, M. & O. Gascuel. 2006. Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. *Syst Biol.* 55, 539-552.



Antezana, T., Hamamé, M., Eissler, Y., Jara, S., 1996. Hydrography in Chilean Fjords: Strait of Magellan to Beagle Channel. *Berichte zur Polarforschung* 190, 16–19.

Antezana, T., 1999. Hydrographic features of Magellan and Fuegian inland passages and adjacent Subantarctic water. *Scientia Marina* 63 (1), 23–34.

Archfield, S. & R. Vogel. 2010. Map correlation method: selection of a reference streamgage to estimate streamflow at ungaged catchments. *Water Resour. Res.*, 46, p. W10513.

Baba, T., K. Momoyama & M. Hiraoka. 1995. A harmful flagellate plankton increased in Tokuyama Bay. *Bull. Yamaguchi Prefect. Naikai Fish. Exp. Stn.* 24, 121–122.

Bates, C. 2008. Multivariate analysis of community structure data. Bamfield Marine Science Centre. www.zoology.ubc.ca/~srivast/biol404/Eco%20Methods%20multivariate.ppt

Beckman, A. & D. B. Haidvogel. 1993: Numerical simulation of flow around a tall isolated seamount. Part I: Problem formulation and model accuracy, *J. Phys. Oceanogr.*, 23, 1736–1753.

Bendtsen, J., J. Mortensen, and S. Rysgaard, 2014. Seasonal surface layer dynamics and sensitivity to runoff in a high Arctic, *J. Geophys. Res. Oceans*, 119, 6461–6478.

Bergkvist, J., Selander, E. & H. Pavia. 2008. Induction of toxin production in dinoflagellates: The grazers makes a difference. *Oecologia* 156: 147-154.

Blanco, J., G. Álvarez & E. Uribe. 2006. Identification of pectenotoxins in plankton, filterfeeders, and isolated cells of a *Dinophysis acuminata* with an atypical toxin profile, from Chile. *Toxicon*: 710-716.

Boesch, D.F., D.M. Anderson, R.A. Horner, S.E. Shumway, P.A. Tester, T.E. Whitledge. 1997. Harmful Algal Blooms in Coastal Waters: Options for Prevention, Control and Mitigation. Science for Solutions. NOAA Coastal Ocean Program, Decision Analysis Series N° 10, Special Joint Report with the National Fish and Wildlife Foundation.

Bols, N.C., A. Barlian, M. Chirino-Trejo, S.J. Caldwell, P. Goegan & L.E.J. Lee. 1994. Development of a cell line from primary cultures of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), gills. *J. Fish. Dis.* 17, 601–611.

Bourlat, S., A. Borja, J. Gilbert, M. Taylor, N. Davies, S. Weisberg, J. Griffith, T. Lettieri, D. Field, J. Benzie, F. Glöckner, N. Rodríguez – Ezpeleta, D. Faith, T. Bean & M. Obst. 2013. Genomics in marine monitoring: New opportunities for assessing marine health status. *Marine Pollution Bulletin* 74(1): 19-31.



Botes, L., Price, B., Waldron, M. & G.C. Pitcher. 2002. A simple and rapid scanning electron microscope preparative technique for delicate "Gymnodinoid" dinoflagellates. *Microsc. Res. Techniq.* 59, 128-130.

Calvete, C. & M. Sobarzo. 2011. Quantification of the surface brackish water layer and frontal zones in southern Chilean fjords between Boca del Guafo (43°30' S) and Estero Elefantes (46°30' S). *Continental Shelf Research* 31:162-171.

Casibianca S., L. Cornetti, S. Capellacci, C. Vernesi & A. Penna. 2017. Genome complexity of harmful microalgae. *Harmful Algae* 63: 7-12.

Castillo, M.I., Cifuentes, U., Pizarro, O., Djurfeldt, L., and Cáceres, M. 2015. Seasonal hydrography and surface outflow in a fjord with a deep sill: the Reloncaví fjord, Chile. *Ocean Sci.* 12, 533-544.

Cembella, A.D., J.J. Sullivan, G.L. Boyer, F.J.R. Taylor & R.J. Andersen. 1987. Variation in paralytic shellfish toxin composition within the *Protogonyaulax tamarens*/*catenella* species complex: red tide dinoflagellates. *Biochem. Syst. Ecol.* 15: 171-186.

Cembella, A. 2003. Chemical ecology of eukaryotic microalgae in marine ecosystems. *Phycologia* 42(4), 420-447.

Clarke, K.R. & R.N., Gorley. 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, 192pp.

Clément, A., M. Seguel, G. Arzul, L. Guzmán, C. Alarcón. 2001. Widespread outbreak of a haemolytic, ichthyotoxic *Gymnodinium* sp. in Southern Chile. In: Hallegraeff, G.M., Blackburn, S.I., Bolch, C.J., Lewis, R.J. (Eds.), Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms, 7–11 February 2000, Hobart, Australia. International Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp. 66–69.

Clément, A., Lincoque, L., Saldivia, M., Brito, C.G., Muñoz, F., Fernández, C., Pérez, F., Maluje, C.P., Correa, N., Moncada, V. & G. Contreras. 2016. Exceptional summer conditions and HABs of *Pseudochattonella* in Southern Chile create record impacts on salmon farms. *Harmful Algal News* 53, 1–3.

Chang, F.H., Sutherland, J.E., McVeagh, M. & M. Gall. 2014. Molecular phylogeny, pigment composition, toxicology and life history of *Pseudochattonella* cf. *verruculosa* (class Dictyochophyceae) from Wellington harbour, New Zealand. *Harmful Algae* 34, 42–55.

Dayeh, V.R., Schirmer, K., Lee, L.E.J. & N.C. Bols. 2005. Rainbow trout gill cell line microplate cytotoxicity test. In: Blaise, C., Féraud, J.F. (Eds.), Small-Scale Freshwater Toxicity Investigations. Springer, The Netherlands, pp. 473–503.

De Brye B., A. de Brauwere, O. Gourgue, E.J.M. Delhez & E. Deleersnijder. 2012. Water renewal timescales in the Scheldt Estuary, *Journal of Marine Systems*, 94, 74-86



Dittami, S.M., and Edvardsen, B. 2012. Culture conditions influence cellular RNA content in ichthyotoxic flagellates of the genus *Pseudochattonella* (Dictyochophyceae). *J. Phycol.* 48, 1050–1055.

DHI. 2016. Mike 3 flow model fm, User Guide Mike.

Dorantes-Aranda, J.J., Waite, T.D., Godrant, A., Rose, A., Tovar, C.D., Woods, G.M. & G.M. Hallegraeff, 2011. Novel application of a fish gill cell line assay to assess ichthyotoxicity of harmful marine microalgae. *Harmful Algae* 10, 366–373.

Dorantes-Aranda, J.J., Seger, A., Mardones, J.I., Nichols, P.D., and Hallegraeff, G.M. 2015. Progress in understanding algal bloom-mediated fish kills: the role of superoxide radicals, phycotoxins and fatty acids. *PLOS ONE* 10 (7), e0133549.

Dyrhman S., D. Erdner, J. La. Du, M. Galac & D. Anderson. 2006. Molecular quantification of toxic *Alexandrium fundyense* in the Gulf of Maine using real-time PCR. *Harmful Algae* 5: 242-250.

Eckford-Soper, L.K., and Daugbjerg, N. 2016a. A quantitative real-time PCR assay for identification and enumeration of the occasionally co-occurring ichthyotoxic *Pseudochattonella farcimen* and *P. verruculosa* (Dictyochophyceae) and analysis of variation in gene copy numbers during the growth phase of single and mixed cultures. *J. Phycol.* 52, 174–183.

Eckford-Soper, L.K. & N. Daugbjerg. 2016b. The ichthyotoxic genus *Pseudochattonella* (Dictyochophyceae): Distribution, toxicity, enumeration, ecological impact, succession and life history – A review. *Harmful Algae* 58, 51-58.

Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 32(5), 1792-1797.

Edvardsen B., K. Shalchian-Tabrizi, K. Jakobsen, L. Medlin, E. Dahl, S. Brubak & E. Paasche. 2003. Genetic variability and molecular phylogeny of *Dinophysis* species (Dinophyceae) from Norwegian waters inferred from single cell analyses of rDNA. *Journal of Phycology* 39(2): 395-408.

Ellegaard, M. & S. Ribeiro. 2018. The long-term persistence of phytoplankton resting stages in aquatic 'seed banks'. *Biol. Rev.* 93: 166–183.

Etheridge, S & C. Roesler. 2005. Effects of temperature, irradiance, and salinity on photosynthesis, growth rates, total toxicity, and toxin composition for *Alexandrium fundyense* isolates from the Gulf of Maine and Bay of Fundy. *Deep-Sea Research II* 52: 2491-2500.

EPA 600/R93/100. Methods for the Determination of Inorganic Substances in Environmental Samples, EPA 600/R93/100, August 1993; Method 353.2, Revision 2.0. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA/AWWA/WEF method 4500-NO₃--F (2000).



Farrell H., W. O'Connor, F. Seebacher, D. Harwood & S. Murray. 2016. Molecular detection of the *SxtA* gene from saxitoxin-producing *Alexandrium minutum* in commercial oysters. *Journal of Shellfish Research* 35(1): 169-177.

Fasham M., H. W. Ducklow & S. M. McKelvie. 1990. A nitrogen-based model of plankton dynamics in the oceanic mixed layer. *Journal of Marine Research*, 48, 591-639.

Franco, J.M. & P. Fernández-Vila. 1993. Separation of Paralytic Shellfish Toxins by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography, with Postcolumn Reaction and Fluorimetric Detection. *Chromatographia* 35: 613-620.

Fux, E., J.L. Smith, T. Tong, L. Guzmán & D.M. Anderson. 2011. Toxin profiles of five geographical isolates of *Dinophysis* spp. from North and South America. *Toxicon* 57(2): 275-287

Galluzzi L., A. Penna, E. Bertozzini, M. Giacobbe, M. Vila, E. Garces, S. Prioli & M. Magnani. 2005. Development of a qualitative PCR method for the *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) detection in contaminated mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Harmful Algae* 4: 973-983.

Garrido, C., M. Frangopulos & D. Varela. 2012. Efecto de diferentes proporciones de nitr3geno/f3sforo en el crecimiento y toxicidad de *Alexandrium catenella* (Dinoflagellate). *Anales Instituto Patagonia* 40(2): 113-123

Giner, J.L., H. Zhao & C.Tomas. 2008. Sterols and fatty acids of three harmful algae previously assigned as *Chattonella*. *Phytochemistry* 69, 2167–2171.

González, H. E., Castro, L., Daneri, G., Iriarte, J. L., Silva, N., Vargas, C., Sánchez, N. 2011. Seasonal plankton variability in Chilean Patagonia fjords: Carbon flow through the pelagic food web of Aysen Fjord and plankton dynamics in the Moraleda Channel basin. *Continental Shelf Research*, 31(3-4), 225–243.

Guillard, R.R. & J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8, 229–239. doi: 10.1139/m62-029.

Guillard, R.R. Division rates. In Stein, J. R. 1973. (ed.), *Handbook of Phycological Methods. Cultures Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 290–311. *Patagonia*, 40(2), 113-123.

Guillard, R.R. & P.E. Hargraves. 1993. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. *Phycologia* 32:234–6.

Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., and Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59(3), 307-321.



Gustafsson, K.E., Bendtsen, J., 2007. Elucidating the dynamics and mixing agents of a shallow fjord through age tracer modeling. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74 (4), 641–654.

Guzmán, L. & I. Campodonico. 1975. Marea roja en la región de Magallanes. *An. Inst. Patagonia, Ser. Monogr.* 9, 1–44.

Guzmán, L., García, F., Zunino, S., Atalah, A., Almonacid, E., Rivera, R., Pacheco, H., Quiroz, S., Alarcón, C., Banciella, M.I. & Pizarro, G. 2004. Adaptive training and information dissemination strategy to communities affected by PSP outbreaks in Southern Chile. In: *Harmful Algae Management and Mitigation*, 2004. Hall, S., Etheridge, S., Anderson, D., Kleindinst, J., Zhu, M and Zou, Y. (Eds). Asia-Pacific Economic Cooperation (Singapore): APEC Publication #204-MR-04.2 p. 114 – 120.

Guzmán, L., G. Vidal, X. Vivanco, V. Arenas, L. Iriarte, S. Mercado, C. Alarcón, H. Pacheco, M. Palma, C. Espinoza, P. Mejías, E. Fernández-Niño, J. Monsalve, G. Pizarro, P. Hinojosa y C. Zamora. 2010. Manejo y Monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Informe Final. 193p. + Figuras + Tablas + Anexos. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción-BoescSubsecretaría de Pesca.

Guzmán, L., G. Vidal, G. Pizarro, X. Vivanco, L. Iriarte, C. Alarcón, V. Arenas, S. Mercado, H. Pacheco, P. Mejías, M. Palma, E. Fernández-Niño, J. Monsalve, C. Espinoza & C. Zamora. 2012. Informe Final Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. V Etapa 2011-2012. SUBPESCA/Marzo 2012, IFOP, Valparaíso, 59 pp.

Guzmán, L., G. Vidal, G. Pizarro, X. Vivanco, L. Iriarte, C. Alarcón, V. Arenas, S. Mercado, H. Pacheco, P. Mejías, M. Palma, E. Fernández-Niño, J. Monsalve, C. Espinoza, G. Labra, S. Cancino & N. Pesse. 2013. Informe Final Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. VI Etapa 2012-13. SUBPESCA/Mayo 2013. IFOP, Valparaíso, 56 pp.

Guzmán, L. *et al.* 2017. Informe Final Convenio de Desempeño 2016, Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, Etapa X 2016-17, Tomo I. Subsecretaría de Economía y EMT, Chile, julio 2017. IFOP, Valparaíso, 103 pp. www.subpesca.cl

Guzmán, L., O. Espinoza, P. Carbonell, R. Martínez, V. Besoain, J. Mardones, G. Pizarro, P. Salgado, G. Fuenzalida, E. Pinilla, E. Cascales, X. Vivanco, J. Cáceres, M. Calderón, L. López, G. Labra, K. Correa, V. Muñoz, H. Pacheco, C. Alarcón, C. Toro, L. Iriarte, M.F. Cornejo, M. Palma, H. Tardón, L. Ramírez, B. Olivares, R. González, C. Soto. 2018. Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, etapa XI 2017-18. Informe Final, 92 p. + Figuras, Tablas, Anexos. Subsecretaría de Economía y EMT.



Henriksen, P., Knipschildt, F., Moestrup, Ø. & H.A. Thomsen. 1993. Autecology, life history and toxicology of the silicoflagellate *Dictyocha speculum* (Silicoflagellata, Dictyochophyceae). *Phycologia* 32, 29–39. doi: 10.2216/i0031-8884-32-1-29.1

Hosoi, S. & Y. Sako. 2005. Species-specific detection and quantification of toxic marine dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* by real-time PCR assay. *Marine Biotechnology* 7: 506-514.

Hwang, D.F. & Y.H. Lu. 2000. Influence of environmental and nutritional factors on growth, toxicity, and toxin profile of dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Toxicon* 38, 1491-1503.

Ihaka, R., Gentleman, R., 1996. A language for data analysis and graphics. *J. Comput. Graph. Stat.* 5, 299–314.

ISP. 2010. Informe Programa de Vigilancia de Floraciones Algales Nocivas (FAN) en Chile. MINSAL-SEREMIS de Salud a3o 2010. Instituto de Salud P3blica de Chile, 28 pp.

ISP. 2013. Informe de Resultados Programa Nacional de Vigilancia y Control de Intoxicaciones por Fen3menos Algales Nocivos, Chile 2013. ISP-MINSAL-SEREMIS de Salud a3o 2013. Instituto de Salud P3blica de Chile, 15 pp.

K3rn3, T. & Baptista, A. M. 2016. Water age in the Columbia River estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 183, 249-259. DOI: 10.1016/j.ecss.2016.09.001

Kavanagh S., C. Brennan, L. O'Connor, S. Moran, R. Salas, J. Lyons, J. Silke & M. Maher. 2010. Real-time PCR detection of *Dinophysis* species in Irish Coastal Waters. *Marine Biotechnology* 12: 534-542.

Kirst, G. O. 1990. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annu. Rev. Plant. Phys.* 41, 21–53.

Krock, B., Seguel, C.G. & Cembella, A.D. 2007. Toxin profile of *Alexandrium catenella* from the Chilean coast as determined by liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Harmful Algae* 6: 734–744.

Laabir M, Jauzein C, Genovesi B, Masseret E, Grzebyk D, Cecchi P. 2011. Influence of temperature, salinity and irradiance on the growth and cell yield of the harmful red tide dinoflagellate *Alexandrium catenella* colonizing Mediterranean waters. *J Plankton Res.* 0(0):1–14.

Langdon, C. 1988. On the causes of interspecific differences in the growth-irradiance relationship for phytoplankton. Part II. A general review. *Journal of Plankton Research* 10(6), 1291-1312.

Le3n-Mu3oz, J., Urbina, M.A., Garreaud, R., and Iriarte, J.L. 2018. Hydroclimatic conditions trigger record harmful algal bloom in western Patagonia (summer 2016). *Scientific Reports* 8, 1330 DOI:10.1038/s41598-018-19461-4



Li, X., T. Yan, J. Lin, R. Yu, M. Zhou. 2017. Detrimental impacts of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* in Fujian coastal waters on typical marine organisms. *Harmful Algae* 61: 1–12.

Liu, Z., H. Wang, X. Guo, Q. Wang, H. Gao, 2012. The age of Yellow River water in the Bohai Sea. *J. Geophys. Res.-Oceans*, 117 (C11), C11006, doi:10.1029/2012JC008263

Liu, T., K.N. Mertens, H. Gu. 2015. Cyst-theca relationship and phylogenetic positions of the diplopsaloideans (Peridiniales, Dinophyceae), with description of *Niea* and *Qia* gen. nov. *Phycologia* 54(2): 210–232.

Lu, D. & J. Goebel. 2000. *Chattonella* sp. bloom in North Sea, spring 2000. *Harmful Algae News* 21, 10–11.

MacIntyre, J.G., J.J. Cullen, A.D. Cembella. 1997. Vertical migration, nutrition and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 148: 201-216.

MacKenzie, L.A., Smith, K.F., Rhodes, L.L., Brown, A., Langi, V., Edgar, M., Lovell, G., and M. Preece. 2011. Mortalities of sea-cage salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) due to a bloom of *Pseudochattonella verruculosa* (Dictyochophyceae) in Queen Charlotte Sound, New Zealand. *Harmful Algae* 11, 45-53.

Mardones, J., Clement, A., Rojas, X. & C. Aparicio. 2010. *Alexandrium catenella* during 2009 in Chilean waters, and recent expansion to coastal ocean. *IOC-UNESCO Harmful Algae Newsletter*, 41: 8–9.

Mardones, J., Clément, A., and Rojas, X. 2012. Monitoring potentially ichthyotoxic phytoflagellates in the southern fjords of Chile. *Harmful Algae News* 45, 6–7.

Mardones, J.I., Dorantes-Aranda, J.J., Nichols, P.D., Hallegraeff, G.M. 2015. Fish gill damage by the dinoflagellate *Alexandrium catenella* from Chilean fjords: synergistic action of ROS and PUFA. *Harmful Algae* 49, 40–49. ^[13] _[SEP]

Mardones, J.I., Bolch, C., Guzmán, L., Paredes, J., Varela, D. & Hallegraeff, G. 2016. Role of resting cysts in Chilean *Alexandrium catenella* dinoflagellate blooms revisited. *Harmful Algae* 55: 238–249.

Mardones, J.I., Shabala, L., Shabala, S., Dorantes-Aranda, J.J., Seger, A., Hallegraeff, G.M. 2018. Fish gill damage by harmful microalgae newly explored by microelectrode ion flux estimation techniques. *Harmful Algae* 80, 55-63.

Matsuoka, K. & Y. Fukuyo. 2000. Technical Guide for Modern Dinoflagellate Cyst Study. WESTPAC-HAB, Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Japan. 77 pp.

McQuoid, M., Godhe, A. & Nordberg, K. 2002. Viability of phytoplankton resting stages in the sediments of a coastal Swedish fjord. *Eur. J. Phycol.* 37:191–201.



McMinn, A., C.J. Bolch., M. de Salas, & G.M. Hallegraeff. 2010. Recent dinoflagellate cysts. In: Hallegraeff, G.M., C.J. Bolch, D. Hill, D. Jameson, J-M. Leroi, A. McMinn, S. Murray, M. de Salas & K. Saunders (eds.), *Phytoplankton flora of Australian coastal waters*. Csiro Publishing, 432 pag.

Mertens, K.N., A. Yamaguchi, H. Kawami, S. Ribeiro, B.S. Leander, A.M. Price, V. Pospelova, M. Ellegaard, K. Matsuoka. 2012. *Archaeperidinium saanichi* sp. nov.: a new species based on morphological variation of cyst and theca within the *Archaeperidinium minutum* Jorgensen 1912 species complex. *Mar Micropaleontol.* 96-97: 48–62.

Montes, R.M., Rojas, X., Artacho, P., Tello, A., Quiñones, R.A. 2018. Quantifying harmful algal bloom thresholds for farmed salmon in southern Chile. *Harmful Algae* 77, 55-65.

Mudie, P.J., F. Marret, K.N. Mertens, L. Shumilovskikh, S.A.G. Leroy. 2017. Atlas of modern dinoflagellate cyst distributions in the Black Sea Corridor: from Aegean to Aral Seas, including Marmara, Black, Azov and Caspian Seas. *Mar. Micropaleontology* 134: 1–152.

Muñoz, P., S. Avaria, H. Sievers & R. Prado. 1992. Presencia de dinoflagelados tóxicos del género *Dinophysis* en el Seno Aysén. *Rev. Bio. Mar. Valparaíso*. 27 (2): 187-212.

Pagé, B., Pagé, M., and Noël, C. 1993. A new fluorometric assay for cytotoxicity measurements *in vitro*. *Int. J. Oncol.* 3, 473–476.

Paredes, J., Aguilera, A., Olivares, B., Uribe, C., Urrutia, G., Seguel, M., Villanueva, F., Vargas, M., and D. Varela. 2016. Morphological variability and genetic identification of ichthyotoxic species *Pseudochattonella* sp. isolated from severe outbreak in 2016 at the northern Patagonian Fjord, southern Chile. Poster presentation at the 17th International Conference on Harmful Algae, Florianópolis, Brazil.

Parkhill, J.P. and A.D. Cembella. 1999. Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from northeastern Canada. *Journal of Plankton Research* 21 (5), 939-955.

Paz B, Vázquez JA, Riobó P, Franco JM. 2006. Study of the effect of temperature, irradiance and salinity on growth and yessotoxin production by the dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in culture by using a kinetic and factorial approach. *Mar Environ Res.* 64(2):286–300.

Pawlowicz, R., B. Beardsley & S. Lentz. 2002. Classical tidal harmonic analysis including error estimates in MATLAB using T_TIDE Computers and Geosciences, 28, pp. 929-937

Pérez-Santos, I. 2017. Deep ventilation event during fall and winter 2015 in the Puyuhuapi Fjord (44.6°S). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 45(1), 223-227.



Pizarro G. 2014. Análisis de toxinas lipofílicas mediante LC-MS/MS en muestras de fitoplancton y moluscos recolectadas durante la floraci3n estival 2013 de *Dinophysis* spp. en Magallanes. Informe final Proyecto de Emergencia SUBPESCA-MINECON. Valparaíso, abril 2014. 16p

Platt, T. & A.D. Jassby. 1976. The relationship between photosynthesis and light for natural assembles of coastal marine phytoplankton. *Journal of Phycology* 12(4), 421-430.

Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25, 1253-1256.

Proctor, N.H., S.L. Chan & A.J. Trevor. 1975. Production of saxitoxin by cultures of *Gonyaulax catenella*. *Toxicon* 13: 1-9.

Quilliam, M.A., Xie, M. & Hardstaff, W.R. 1995. Rapid Extraction and Cleanup for Liquid Chromatographic Determination of Domoic Acid in Unsalted Food. *J. AOAC Int.* 78(2): 543-554.

Ribeiro, S., Berge, T., Lundholm, N., Andersen, T.J., Abrantes, F., Ellegaard, M. 2011. Phytoplankton growth after a century of dormancy illuminates past resilience to catastrophic darkness. *Nature Communications* 2: 311-317.

Ronquist, F. & J.P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572-1574.

Salgado, P., Vázquez, J.A., Riobó P., Franco, J.M., Figueroa, R.I., Kremp, A., et al. 2015. A kinetic and factorial approach to study the effects of temperature and salinity on growth and toxin production by the dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* from the Baltic Sea. *PLoS ONE* 10(12): e0143021. doi:10.1371/journal.pone.0143021

Savelle H., K. Harju, L. Spoof, E. Lindehoff, J. Meriluoto, M. Vehniäinen & A. Kremp. 2016. Quantity of the dinoflagellate sxtA4 gene and cell density correlates with paralytic shellfish toxin production in *Alexandrium ostenfeldii* blooms. *Harmful Algae* 52: 1-10.

Schirmer, K., Chan, A.G.J., Greenberg, B.M., Dixon, D.G. & N.C. Bols. 1997. Methodology for demonstrating and measuring the photocytotoxicity of fluoranthene to fish cells in culture. *Toxicol. In Vitro* 11, 107-119.

Schneider et al., W., Pérez-Santos, I., Ross, L., Bravo, L., Seguel, R., & Hernández. 2014. On the hydrography of Puyuhuapi Channel, Chilean Patagonia. *Prog.Oceanogr.*,129, Part A, 8-18.

Scholin, C.A., Herzog, M., and Anderson, D.M. 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). II. Sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gene. *J. Phycol.* 30, 999-1011.

Shen, J., Wang, H.V., 2007. Determining the age of water and long-term transport timescale of the Chesapeake Bay. *Estuar.Coast. Shelf Sci.* 74, 585-598.



Sievers, H. A. (2008). Water masses and circulation in austral Chilean channels and fjords. Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn, 53-58.

Skjelbred, B., Horsberg, T.E., Tollefsen, K.E., Andersen, T., and Edvardsen, B. 2011. Toxicity of the ichthyotoxic marine flagellate *Pseudochattonella* (Dictyochophyceae, Heterokonta) assessed by six bioassays. *Harmful Algae* 10, 144–154.

Smetacek, V. 2001. A watery arm races. *Nature* 411, 745.

Silva, N., Calvete, C., Sievers, H. 1998. Masas de agua y circulaci3n general para algunos canales australes chilenos entre Puerto Montt y Laguna San Rafael (Crucero CIMAR-Fiordo 1). *Cienc. Tecnol. Mar.* 21, 17–48.

Silva, N. & C. Calvete. 2002. Características oceanográficas físicas y químicas de canales australes chilenos entre el golfo de Penas y el estrecho de Magallanes (Crucero CIMAR Fiordo 2). *Cienc. Tecnol. Mar.* 22(1): 23-88.

Silva, N. 2006. Oxígeno disuelto, pH y nutrientes en canales y fiordos australes. En: N. Silva & S. Palma (Eds.). Avances en el conocimiento oceanográfico de las aguas interiores chilenas, Puerto Montt a cabo de Hornos. Comité Oceanográfico Nacional – Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, pp. 37-43.

Taroncher-Oldenburg, G., D.M. Kulis, D.M. Anderson. 1999. Coupling of saxitoxin biosynthesis to the G1 phase of the cell cycle in the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*: temperature and nutrients effects. *Nat. Toxins.*, 207-219.

Tomas, C.R., Ono, C., Yoshimatsu, S., Go`bel, J. 2004. *Chattonella verruculosa* and related species from Japan, Europe (North Sea) and U.S. coastal waters: cases of mistaken identity? In: Steidinger, K.A., Landsberg, J.H., Tomas, C.R., Vargo, G.A. (Eds.), *Harmful Algae*. Florida Fish and Wildlife

Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, pp. 425–427.

UNESCO. 1996. Design and Implementation of Some Harmful Algal Monitoring Systems. Intergovernmental Oceanographic Commission (IOC) 44:1-102.

Uribe, J. C., C. García, M. Rivas & N. Lagos. 2001. First report of diarrhetic shellfish toxins in Magellanic fjords, southern Chile. *J. Shellfish Res.* 20: 69-74.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommen der quantitativen Phytoplankton. Methodik. Mitt int. Verein. Theor. angew. Limnol. 9, 38 p.



Valle-Levinson, A., Blanco, J., Frang3pulos, L.M., 2006. Hydrography and frontogenesis in a glacial fjord off the Strait of Magellan. *Ocean Dynamics* 56, 217–227. <http://dx.doi.org/10.1007/s10236-005-0048-8>

Vandersea M., S. Kibler, S. Van Sant, P. Tester, K. Sullivan, G. Eckert, C. Cammarata, K. Reece, G. Scott, A. Place, K. Holderied, D. Hondolero & W. Litaker. 2017. qPCR assays for *Alexandrium fundyense* and *A. ostenfeldii* (Dinophyceae) identified from Alaskan waters and a review of species-specific *Alexandrium* molecular assays. *Phycologia* 56(3): 303–320.

Varela, D., J. Paredes, C. Alves-de-Souza., M. Seguel, A. Sfeir., M. Frang3pulos. 2012. Intraregional variation among *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) strains from southern Chile: Morphological, toxicological and genetic diversity. *Harmful Algae* 15: 8-18.

Viero, D.P. & A. Defina. 2016. Water age, exposure time, and local flushing time in semi-enclosed, tidal basins with negligible freshwater inflow. *Journal of Marine Systems*, Volume 156, p. 16-29.

Watras C.J., Chisholm S.W. & D.M. Anderson. 1982. Regulation of growth in an estuarine clone of *Gonyaulax tamarensis* Lebour: Salinity - dependent temperature responses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 1982; 62:25–37.

Weideman, S.S., Sauter, T., Kilian, R., Steger D., Butorovic, N. and Schneider, C. 2018. A 17-year Record of Meteorological Observations Across the Gran Campo Nevado Ice Cap in Southern Patagonia, Chile, Related to Synoptic Weather Types and Climate Modes. *Front. Earth Sci.* 6: 53. doi: 10.3389/feart.2018.00053. www.frontiersin.org

Wiese, M., P. D'Agostino, T. Mihali, M. Moffitt & B. Neilan. 2010. Neurotoxic alkaloids: saxitoxin and its analogues. *Mar. Drugs.*, 8(7): 2185–2211.

Willmott C.J., S.G. Ackleson, R.E. Davis, J.J. Feddema, K.M. Klink, D.R. Legates, J. O'Donnell, C.M. Rowe. 1985. Statistics for the evaluation of model performance. *Journal of Geophysical Research* 90(C5): 8995 – 9005

Yamaguchi, M., Itakura, S., Nagasaki, K., Matsuyama, Y., Uchida, T., and Imai, I. (1997). Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.* 19, 1167–1174.

Yasumoto, T., Murata, M., Oshima, Y., Matsumoto, G.K. & Clardy, J. 1984. Diarrhetic shellfish poisoning. ACS Symposium Series No. 262. In Ragelis, E.P. ed. *Seafood Toxins*, pp. 207-214. American Chemical Society Symposium Series.

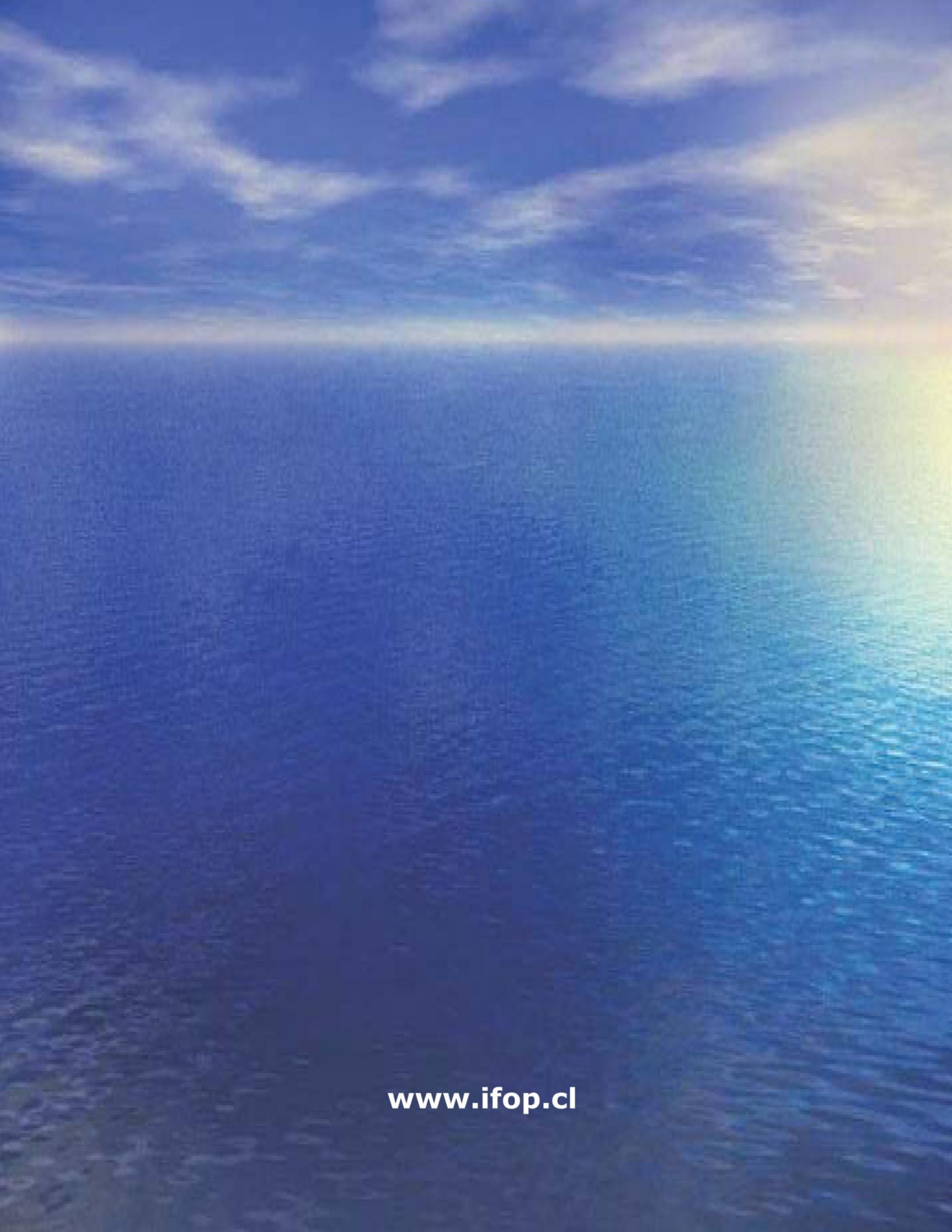
Zhang, W.G., Wilkin, J.L., Schofield, O.M.E., 2010. Simulation of water age and residence time in New York Bight. *J. Phys. Oceanogr.* 40, 965–982.



Zonneveld, K.A.F., V. Pospelova. 2015. A determination key for modern dinoflagellate cysts. *Palynology* 39(3): 387–409.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Sección Ediciones y Producción
Blanco 839, Fono 56-32-2151500
Valparaíso, Chile
www.ifop.cl



www.ifop.cl