



INFORME FINAL CORREGIDO TOMO I

Texto

Convenio Desempeño 2019:
Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en el
sistema de fiordos y canales de Chile,
XIII etapa año 2019-2020
SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / JUNIO 2020



INFORME FINAL

Convenio Desempeño 2019:

Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas
en el sistema de fiordos y canales de Chile,
XIII etapa año 2019-2020

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / JUNIO 2020

REQUIRENTE

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

Subsecretario de Economía Y EMT
Esteban Carrasco Zambrano

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 2020

AUTORES

Leonardo Guzmán Méndez
Oscar Espinoza González
Pamela Carbonell Arias
Rodrigo Martínez González
Gemita Pizarro Nova
Pablo Salgado Garrido
Jorge Mardones Sánchez
Gonzalo Fuenzalida Del Río
Valentina Besoain Meneses
Emma Cascales Hellman
Mauricio Palma Alarcón
César Alarcón Zapata
Hernán Pacheco Valle
Carolina Toro Ruiz
Luis Iriarte Bustamente
Verónica Muñoz Ojeda
María Fernanda Cornejo Acevedo
Gissela Labra Holzapfel
Loreto López Rivera
Julia Cáceres Chamizo
Karen Correa Sepúlveda
Bianca Olivares Olivares
Rosa González González
Carolina Soto Castillo
Leandro Lincoqueo Saldivia

COLABORADORES

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

T O M O I

TEXT O



RESUMEN EJECUTIVO

Este documento corresponde al informe final del Programa Manejo y Monitoreo de las mareas rojas en el sistema de fiordos y canales de Chile XIII Etapa año 2019-2020. 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, según las normas oficiales, es solventado por el Ministerio de Salud (MINSAL) y realizado en los laboratorios de las Secretarías Regionales Ministeriales de Salud ubicados en Puerto Montt, Puerto Aysén y Punta Arenas. El trabajo de esta etapa fue iniciado en marzo de 2019 y se extendió hasta febrero de 2020. El trabajo, al igual que desde 2013, se abordó por subprograma según las áreas geográficas, sus complejidades y los aspectos que se desea cautelar, adaptando las frecuencias de muestreo y distribución de los sitios de muestreo según las características de cada sector.

El objetivo general es disponer de un sistema oportuno de muestreo, detección y cuantificación periódico de microalgas nocivas y toxinas marinas adecuado a la realidad geográfica del sistema de fiordos y canales del sur de Chile.

En esta oportunidad los objetivos específicos fueron reducidos en número e incorporando como actividades que constituían objetivos específicos; es así, que los primeros cuatro objetivos de la etapa previa quedaron en un solo objetivo. Ahora el estudio sólo consta de cuatro objetivos específicos más un objetivo adicional que da cuenta de actividades, ligadas al tema, pero que no estaban en la propuesta técnica. El primer objetivo está orientado al monitoreo, y desarrollado a través de subprogramas, a) Regular (con muestreo de baja frecuencia: cuasi mensual), b) Fiscalización y Vigilancia, y c) Raúl Marín Balmaceda (los dos últimos con muestreo de alta frecuencia: cuasi cada 10 días); se incluye una actividad adicional referida a identificación y abundancia de quistes de dinoflagelados en sedimentos superficiales; el segundo objetivo considera el registro de variables oceanográficas y biológicas en zonas geográficas representativas para continuar con el desarrollo del modelo sobre la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*; el tercer objetivo está referido a la continuación del análisis interpretativo de los antecedentes generados por el programa desde sus inicios, trabajo efectuado en las primeras tres etapas del estudio, y luego discontinuado, para retomar de manera permanente desde la VIII etapa 2014-2015, cuya orientación ha sido entregar una visión global comprensiva de la información generada a partir de mayo 2006; y que incluye una continuación del análisis rutinario e incorporación de la representación gráfica; exploración de las relaciones entre taxones de los géneros *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*; en búsqueda de índices de alerta temprana; análisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo 0-10 y 10-20 m de profundidad; variabilidad espacial y temporal de la temperatura y salinidad y variabilidad interanual de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum* en el fiordo Reloncaví; el cuarto objetivo, está orientado a difundir periódicamente la información generada por el programa a la autoridad y a todo público; como parte de este objetivo se incluye la realización de un seminario público de presentación de resultados



abarcando el lapso mayo 2006-febrero 2019, poniendo énfasis en los resultados logrados desde 2006 hasta la fecha; y se ha agregado un quinto objetivo, con aspectos no comprometidos en la propuesta técnica, que refleja capacidades del grupo de trabajo y evita mezclar estos resultados con aquellos comprometidos; se incluyen dos tipos de resultados, hallazgos diversos sobre *Karenia selliformis*, y resultados de la aplicación de técnicas moleculares para la identificación masiva de microalgas y otros organismos (i.e. “metabarcoding”).

El trabajo de esta etapa fue iniciado en marzo de 2019 y en su fase de terreno culminó en febrero de 2020. Entre los resultados más relevantes de esta etapa se incluyen:

a) Los registros más altos de toxina paralizante (TPM) para el lapso marzo 2019 y febrero 2020 se observaron en Aysén. En Los Lagos, los niveles máximos se observaron en el sur de la isla de Chiloé (85 y 200 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$); la región de Aysén, presentó el rango más amplio de toxicidades sobre la norma (i.e. 80 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), entre 81-5.453 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$; el máximo ocurrió en la Tronador (A50); en Magallanes, predominó no detectable (ND), el rango de toxicidad varió entre 86 y 204 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$, entre marzo y julio 2018, y en solo 2 sitios, canal Adalberto (M04) y bahía Liberta (M05), ambas en el área norte de esta región. Las toxinas lipofílicas (bioensayo ratón) fueron detectadas en las 3 regiones, la distribución geográfica de los resultados positivos fue relativamente homogénea, la frecuencia de muestras positivas por estación, fue muy diferente. Para Los Lagos, el rango de frecuencia positivos fue de 27-36% y se distribuyó en el 10% (N=4): Chayahué, (L04N3), Hueihue (L06), I. Caucahué (L07) y Ayacara (L10), todas en el área norte de la región. La región de Aysén, presentó un 51% (N=32) con muestras positivas, principalmente en Aysén continental norte, iniciando en canal Jacaf, continuando por la costa continental hasta el área sur de la región. En Aysén insular, destacaron I. Concoto (A33), I. Teresa (A37), Pto. Lampazo (A39), I. Silachilu (A40) y C. Vicuña (A51), con resultados positivos >50% de los muestreos. Magallanes presentó 16 estaciones (22%) con muestras positivas >50% del total de cruceros realizados. 6 de estas estaciones, son del sector norte, 9 del centro y 1 del sur. El rango de positivos varió entre 55 y 64%, e inferior a la región de Aysén. Respecto de la toxina amnésica de los mariscos (TAM), durante el periodo marzo 2019-febrero 2020, sólo hubo niveles no detectables (ND) para las tres regiones.

b) *Alexandrium catenella*, para Chiloé norte no se registró y en Chiloé centro sólo se detectó nivel 1 (raro) en algunas estaciones entre abril y diciembre. En Aysén norte, se detectó durante todo el periodo de monitoreo, con valores más altos de abundancia relativa (AR) en abril, llegando a 6 en seno Ventisquero 1 (A19N1), 5 en seno Ventisquero 2 (A19N2). El resto de las estaciones no mostró estimaciones sobre 3. En Aysén sur, se detectó durante todo el estudio, con AR máxima de 6 en isla Canquenes (A26) en diciembre 2019. A diferencia de Aysén norte, se detectaron estimaciones entre 4 y 6 prácticamente durante todo el año, a excepción de otoño-invierno donde la AR no superó el nivel 3. Tortel no presentó *A. catenella* durante solo durante enero y febrero 2020. La AR máxima fue nivel 3 en isla Orlebar (A55) en agosto y septiembre 2019 y, en islote Porvenir (A62) en agosto 2019. En el área norte de Magallanes, se detectó durante gran parte entre marzo 2019 a febrero 2020. Presentó nivel 4 prácticamente durante todo el año en algunas estaciones y nivel 5 en noviembre 2019 en isla



Salamanca (M06N2), A. Hamond (M03N) y Punta Falsa (M07N1). Magallanes centro presentó bajos niveles de AR durante todo el período, alcanzando 3 en diciembre 2019 en Cutter Cove (M29), Punta Carrera sur (M36N1), Punta Carrera norte (M36N2), bahía Agua Fresca (M37) y Guairabo norte (M37N2). En Magallanes sur, hubo bajos niveles de AR con excepción de diciembre 2019 y enero 2020, donde se registró nivel 5 en puerto Williams (M45) en diciembre 2019, ventisquero España (M41) y ventisquero Holanda (M42), ambas en enero 2020. *Alexandrium ostenfeldii*, para Chiloé norte no registró AR elevadas, pero se detectó principalmente durante julio y agosto 2019, y enero 2020, ya que algunos sitios alcanzaron AR entre 4 (abundante) y 5 (muy abundante). En Chiloé centro, se observó con valores de AR entre 1 (raro) y 5 (muy abundante) entre marzo y septiembre de 2019 y un nivel de 7 (hiper abundante) en isla Butachauques (L09N1) en marzo 2019. Para Chiloé sur, se observó con valores bajos, sin embargo, algunas estaciones presentaron valores de 4 (abundante) y 5 (muy abundante) entre marzo y septiembre de 2019 y entre enero y febrero de 2020 y se alcanzó el nivel 6 (extremadamente abundante) el 1 de julio de 2019 en Yelcho (L19N1). En Aysén norte, se observó con valores bajos que no superaron el nivel 3 (regular). En Aysén sur, se detectó con una AR mayor que en Aysén norte. En Colonia Grande (A52) alcanzó 4 en marzo 2019 y en isla Orestes (A23), 6. Entre octubre de 2019 y febrero de 2020 los niveles de AR estuvieron entre 4 y 6 y abarcó una gran extensión geográfica principalmente durante octubre, mes que en isla Ester (A32N1) alcanzó una AR=6. En Tortel no se observaron AR altas, con rangos entre 1 (raro) y 3 (regular), con excepción de mayo 2019 con un AR de 4 (abundante) en isla Scout (A57) e islote Porvenir (A62). Magallanes norte presentó valores altos de AR entre abril del 2019 a febrero del 2020 con niveles de 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante) y un máximo de 8 (ultra abundante) en abril 2019 en M04 (Canal Adalberto) y M05 (Bahía Libertad). En Magallanes centro, la AR fue baja no superando el nivel 2 (escaso). En Magallanes sur, también fueron bajos, no superando el nivel 3 (regular) observado en diciembre de 2019. *Dinophysis acuminata*, se detectó en toda el área de estudio con una clara disminución de la AR con la latitud. En Chiloé norte, las AR fueron con un rango muy amplio con estimaciones entre 1 (raro) y 10 (>mega abundante). Nivel 10 se presentó en Yates (L02) y Sotomó (L02N1) en marzo 2019. En Chiloé centro, las AR también fueron amplias entre 1 (raro) y 8 (ultra abundante). Se observó en julio de 2019 un descenso en la AR y sólo en isla Talcán (L14) alcanzó nivel 4 (abundante). En Chiloé sur, las AR estuvieron entre 0 (ausente) y 9 (mega abundante). Valores de AR (por sobre nivel 3) se observaron durante gran parte del estudio, siendo bahía Tic-Toc (L25) la que alcanzó nivel 9 en enero 2020. En Aysén norte, se observaron valores entre ausente y nivel 10 (>mega abundante). En abril de 2019 se observaron estimaciones entre seno Magdalena (A19) y Puerto Amparo (A21) entre 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante). Entre mayo y octubre de 2019 la AR fue baja ya que no superó el nivel 3 (regular). A partir de noviembre de 2019 se observó un incremento en la AR, llegando a 10 (>mega abundante) en seno Miller (A14) y seno Ventisquero 2 (A19N2) en enero 2020. En Aysén sur, también se observó la presencia con valores de AR entre los niveles 0 y 10. Al igual que en Aysén norte, se observaron valores altos entre marzo y abril de 2019 (niveles 4 a 7). A partir de mayo y hasta septiembre 2019 los niveles de AR disminuyeron en la mayoría de las estaciones, sólo en mayo de 2019 isla Julián (A30) e isla Vergara (A32) presentaron nivel 4. A partir de octubre 2019 la AR incrementó llegando a 10 en febrero de 2020. En Tortel presentó niveles de AR entre 1 y 10. La mayoría de las estaciones registraron valores altos de AR (desde nivel 4 a 10),



siendo A62 (islote Porvenir) la que presentó el nivel 10 (>mega abundante) el 13 de febrero de 2020. En Magallanes norte, la AR varió entre ausente y 9 (mega abundante). Entre mayo de 2019 y julio de 2019 se observaron valores de AR entre 4 (abundante) y 9 (mega abundante), luego la AR disminuye entre septiembre y octubre de 2019 en que la AR no superó el nivel 3. A partir de noviembre y hasta febrero de 2020 la AR aumenta llegando en algunas estaciones al nivel 9 en enero de 2020. A diferencia de Magallanes norte, Magallanes centro presentó niveles bajos de AR, sólo Pta. Carrera norte (M36N2) en diciembre de 2019 y M36N1 en enero de 2020 alcanzaron nivel 4 (abundante). En Magallanes sur, los valores de AR variaron entre ausente y 9, pero sólo entre diciembre 2019 y enero 2020 se registraron valores altos (entre nivel 4 y 9) siendo M40 (seno Ventisquero) la que registró nivel 9 (mega abundante) en diciembre 2019. *Dinophysis acuta*, en la región de Los Lagos, sólo se detectó en Chiloé centro y sur, pero con bajas AR, sólo L19N1 (Yelcho), alcanzó 2 (escaso) en abril de 2020. En Aysén norte, la AR no superó 3 (regular) con la excepción de A19N1 (seno Ventisquero 1) y A19N2 (seno Ventisquero 2) que en abril de 2019 alcanzaron nivel 6 (extremadamente abundante). En Aysén sur, sólo se registraron valores intermedios de AR (niveles 4 al 7) entre marzo y abril de 2019 y en febrero de 2020, mes en que A48N1 registró nivel 7. En Tortel, las AR fueron bajas y sólo se registró nivel 3 en islote Porvenir (A62) en febrero 2020. En Magallanes norte, la AR fue baja, no superando 3 (regular). En Magallanes centro y sur no se detectó, con la excepción de Puerto Eugenia (M46) que en enero de 2020 (crucero 10) registró 1 (raro). *Protoceratium reticulatum*, presentó bajas AR en Chiloé norte y sólo en marzo y abril de 2019 se registraron valores altos. El nivel más alto alcanzó 6 (extremadamente abundante) en Yates (L02) y Sotomó (L02N1) en marzo de 2019. En Chiloé centro, la AR fue baja durante todo el estudio y como máximo se registró 4 (abundante) en Ayacara (L10) en marzo y abril de 2019 e isla Butachauques 2 (L09N1) en abril 2019. En Chiloé sur también se registraron bajas AR y solamente Auchemó (L17) alcanzó nivel 4 (abundante) en abril de 2019. En Aysén norte entre abril y mayo de 2019 la máxima AR alcanzó 6 en seno Ventisquero 1 (A19N1) y seno Ventisquero 2 (A19N2), luego entre junio y diciembre de 2019 la AR disminuyó a ausente y máximo 3, luego en enero de 2020 mostró un aumento alcanzando 7 en isla Manuel (A15) en febrero de 2020. En Aysén sur se registraron niveles bajos de AR y solamente en febrero de 2020 se hubo valores altos, llegando a 6 en isla Ester (A32N1). De igual modo, en Tortel, se observó que sólo en isla Orlebar (A55) e islote Porvenir (A62) se registró nivel 5 (muy abundante) en marzo de 2019, durante el resto del estudio no se superó el nivel 3. En Magallanes norte, hubo bajos niveles de AR y llegó hasta 4 en canal Adalberto (M04) en abril 2020 y en bahía Libertad (M05) en mayo 2019. En Magallanes centro, no se registró con la excepción de isla Contramaestre Sur (M39D1) que registró nivel 1 en febrero 2020. En Magallanes sur no se detectó. *Pseudo-nitzschia cf. australis*, registró en Chiloé norte, AR entre ausente y 10. Las estimaciones más altas se registraron entre enero y febrero de 2020 en que L04 (Calbuco, Paso Quenu) y L06N3 (Pichicolo) alcanzaron nivel 10. En Chiloé centro se detectó con niveles entre 1 y 10. Los más bajos se observaron entre junio y septiembre de 2019 en que no superó el nivel 4, excepto en L12 (Isla Quehui) que alcanzó nivel 5 en septiembre de 2019. A partir de octubre se observó un incremento gradual llegando a los máximos en febrero de 2020 con niveles entre 8 y 10. En Chiloé sur, la AR varió entre ausente y 9. Entre junio y diciembre de 2019 la AR no superó 3 en la mayoría de las estaciones, excepto L16 (Isla Acui) y L22N1 (Ensenada Quilanlar) con 7 y 5, respectivamente, en noviembre de 2019. En enero y febrero de 2020 se registraron los



niveles más altos, pero en muy pocas estaciones. El más alto (nivel 9) se registró en L17N2 (Isla Tranqui) y L25 (Bahía Tic Toc) en enero de 2020. En Aysén Norte, la AR varió entre ausente y 7, sin embargo, durante la mayor parte del estudio no superó 3 en la mayoría de las estaciones. En marzo de 2019, A39 (Puerto Lampazo), A40 (Isla Silachilu) y A41 (Canal Ninualac) alcanzaron 7, luego a partir de octubre de 2019 se observó un aumento gradual de la AR. En enero de 2020 varió entre 4 y 6 en la mayoría de las estaciones y A02N1 (Repollal Bajo-Canal Puquitrín) alcanzó 7. En Aysén sur, la AR estuvo entre ausente y 8. En marzo y abril de 2019, se presentaron altas AR (entre 4 y 8), luego entre mayo y septiembre de 2019, la AR cae y no superó 3. A partir de octubre de 2019 la AR incrementó gradualmente. Entre diciembre de 2019 y febrero de 2020 todas las estaciones presentaron AR entre 4 y 7. En Tortel, se observó durante todo el estudio. Entre julio y septiembre de 2019 se presentaron AR entre 4 y 6, luego entre octubre de 2019 y enero de 2020 cae en todas las estaciones y no superó 2. En febrero de 2020 se observó un nuevo incremento, A57 (Isla Scout) y A62 (Islote Porvenir) presentaron los valores mayores (nivel 7). En Magallanes Norte hubo valores altos de AR, llegando a 8 en M25N (Estero Ringdove) y M09 (Estero Pengüin) en mayo de 2019 y en M24N1 (Paso Piloto Pardo) en septiembre de 2019. En Magallanes Centro, la mayoría de las estaciones presentaron valores entre 4 y 6. Entre abril y agosto de 2019 prácticamente no se detectó la presencia y sólo tres estaciones registraron nivel 1. A partir de septiembre de 2019 y hasta febrero de 2020, se detectó nuevamente, pero con niveles bajos, pero en diciembre de 2019, la mayoría de las estaciones presentaron AR entre 5 y 6. En Magallanes sur la AR fue baja y no superó 3. La excepción ocurrió en diciembre ya que todas las estaciones registraron AR entre 5 y 6. *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, se detectó durante todo el período del estudio en Chiloé norte con AR entre ausente y 10. En enero y febrero de 2020 se observó un incremento en la AR con valor > 4. El máximo valor fue 10 en Caleta La Arena (L03) y Calbuco - Paso Quenu (L04) en enero. En Chiloé centro estuvo presente todo el período del estudio. Entre marzo y septiembre de 2019 se registraron AR más bajos ya que la mayoría de las estaciones y no superó el nivel 3. A partir de octubre de 2019 y hasta febrero de 2020 la AR registró un aumento alcanzando nivel 10 en enero de 2020 en IL09 Isla Butachauques, L10 Ayacara y L10N2 Isla Talcán 2. Durante este período gran parte de las estaciones presentaron AR que variaron entre 5 y 9. En Chiloé Sur la mayoría de las estaciones presentaron bajos niveles de AR. Entre noviembre de 2019 y febrero de 2020 algunas estaciones registraron valores de AR entre 4 y 9. Las estaciones con valores más altos fueron L17 Auchemó y L17N2 Isla Tranqui con nivel 8 y L17N1 Estero Palvidad y L25 Bahía Tic Toc con nivel 9 en enero de 2020. En Aysén Norte se registró en la mayoría de las estaciones durante todo el estudio. Entre marzo y mayo de 2019 algunas estaciones registraron valores de AR entre 4 y 9, siendo la A19N1 Seno Ventisquero 1 la que registró el más alto. Entre junio y agosto de 2019 la AR registró bajos valores, no superando 2 en la mayoría de las estaciones. A partir de septiembre de 2019, los niveles de AR aumentaron gradualmente y entre noviembre de 2019 y febrero de 2020 casi la totalidad de las estaciones registraron valores entre 4 y 9. En Aysén Sur se registraron altas AR durante todo el estudio, alcanzando nivel 8. Sólo entre junio y julio se observó una disminución, y la mayoría de las estaciones no superó 3. En Tortel fue baja durante todo el estudio no superando 3, a excepción de septiembre de 2019 donde 4 de las 5 estaciones registraron 5 y de febrero de 2020 donde A55 Isla Orlebar y A57 Isla Scout registraron nivel 6. En Magallanes Norte, la AR varió entre ausente y 7 y estuvo en la mayoría de las estaciones durante



todo el estudio. Entre marzo y julio de 2019, la AR fue baja, salvo en algunas estaciones que registraron niveles 4 y 5 durante este período. En septiembre de 2019 en cambio, la AR presentó valores altos en todas las estaciones, salvo en cuatro estaciones en que no superó 3. M25N Estero Ringdove, M16 Isla Piazzzi, M16N1 Isla Rennell y M17 Caleta Williams presentaron las AR más altas alcanzando el nivel 7. Entre noviembre y diciembre de 2019 cae la AR y ninguna estación superó el nivel 3, sin embargo, entre enero y febrero de 2020 se observó un repunte en la AR alcanzando algunas estaciones 4 y 5. En Magallanes Centro, durante marzo de 2019 todas las estaciones registraron AR entre 5 y 8 con la excepción de M35 Cabo San Isidro que registró nivel 1. Las estaciones con nivel 8 fueron M26 Estero Wickham, M34 Seno Pedro y M39D2 Isla Contramaestre Este. Sin embargo, entre abril y noviembre de 2019 se registró un notorio descenso sobre todo entre abril y agosto de 2019 en que prácticamente no se detectó y algunas estaciones registraron nivel 1. En octubre, bahía Agua Fresca (M37) y Guairabo sur (M37N1) presentaron nivel 4. En diciembre de 2019 se observó un nuevo incremento, ya que varió entre 4 y 5, excepto siete estaciones que no superaron el nivel 3. En Magallanes sur, fue escasa ya que la AR varió entre ausente y 3 durante todo el estudio, con excepción de diciembre de 2019 en que todas las estaciones registraron nivel 4.

c) Para el lapso marzo 2019 – febrero 2020, los nutrientes, temperatura, salinidad y densidad por estrato 0-10 y 10-20m para toda el área estudiada, por región administrativa mostraron lo siguiente. Para el nitrato (NO_3^-) los promedios variaron entre 1,58 μM en el estrato 0-10m en la región de Magallanes y 21,90 μM en el estrato 10-20m en la región de Los Lagos; en las tres regiones y en las cuatro estaciones del año, con excepción del otoño en Magallanes, las concentraciones promedio fueron más altas en el estrato de 10-20m. Los promedios más altos se observaron en Los Lagos, y éstos disminuyen con la latitud. El nitrito (NO_2^-) promedio varió entre 0,17 μM registrado en invierno en el estrato 10-20m en Los Lagos y 1,07 μM en otoño en mismo estrato en Magallanes; no se advierte ningún patrón entre regiones, las concentraciones son muy bajas, y sólo en una oportunidad en otoño en 10-20m en Magallanes se registró un promedio superior a 1 μM . Respecto del fósforo (PO_4^{3-}), el rango de las estimaciones promedio varió entre 0,32 μM en verano en 0-10m en Magallanes y 1,64 μM en otoño en 10-20 m en Los Lagos; los resultados muestran que el promedio por estación del año, en las tres regiones, las estimaciones más altas fueron en otoño e invierno, en ambos estratos en la región de Los Lagos, y que las más bajas fueron observadas en la región de Magallanes; las concentraciones promedio más bajas ocurrieron en primavera tanto en Los Lagos como en Magallanes, incluso en esta última ello también ocurrió durante verano, en cambio en Aysén durante primavera mostró las estimaciones más altas de esta región. Para el silicato ($\text{Si}(\text{OH})_4$), el rango de las concentraciones promedio varió entre 2,05 μM registrado en otoño en 10-20m en Magallanes y 17,51 μM en invierno en 0-10m en Los Lagos; los resultados de los promedios más bajos, fueron observados en Magallanes en las cuatro estaciones del año; y Los Lagos presentó las concentraciones promedio más altas, en ambos estratos. Para las temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) el rango de los promedios varió entre 6,97 $^{\circ}$ en 0-10m en Magallanes y 13,43 $^{\circ}$ en el mismo estrato para verano, en Los Lagos; las temperaturas promedio muestran una declinación con la latitud, las más altas en Los Lagos y las más bajas en Magallanes; en todas las regiones los registros más altos ocurrieron en verano, periodo en que además se advierten temperaturas más bajas mínimas y máximas en el estrato de 10-20m, ya que



para las otras estaciones del año ello no siempre así. Respecto de la salinidad, el rango de los promedios varió entre 26,73 PSU en el verano en 0-10m en la región de Magallanes y 32,47 PSU en primavera en el estrato 10-20m en la región de Los Lagos; no obstante que los registros máximos estuvieron sobre 33 PSU, en general las estimaciones muestran la condición estuarina del área de estudio con promedios que variaron entre 26,73 en Magallanes durante verano en 0-10 y 32,71 PSU en otoño en 10-20m en Los Lagos; ello es evidente de los registros mínimos que variaron entre 10,71 en invierno en 0-10 en Los Lagos y en la misma región se observó la mínima más alta, 30,93 PSU en 10-20m; en todas las regiones, en todas las estaciones del año, las estimaciones fueron mayores en 10-20m. Finalmente la densidad muestra que la densidad es función de la salinidad y el rango de las estimaciones promedio varió entre 20,55 en verano para 0-10m en Magallanes y 24,94 en otoño e invierno, ambos en 10-20m en la región de Los Lagos.

d) El grado de avance del modelo para *A. catenella*, permite calibrar y mejorar las ecuaciones de mortalidad y crecimiento, pero la orientación más importante considera una modelación más operativa que incluya un modelo de partículas provisto de tasas ecofisiológicas de esta microalga y que respondan a las condiciones ambientales, el progreso muestra mejoras en la modelación ante distintas condiciones de temperatura, salinidad, luz y nutrientes, pero es necesario continuar con las mediciones de estas variables para mejorar ajustes entre ellas y con el crecimiento; además, se requiere avanzar en la evaluación de tasas de germinación de quistes de resistencia bajo distintas condiciones ambientales, a fin de mejorar la comprensión de la dinámica de las floraciones de esta especie. Se sugiere un sector al norte de Aysén para expandir el trabajo relacionado con la modelación de la distribución y abundancia de esta microalga.

e) Según un análisis de conglomerados la densidad celular de fitoplancton y diatomeas, difieren notoriamente de los conjuntos de sitios de muestreo formados para los dinoflagelados. Los resultados son consistentes con la hipótesis de formación de micro-hábitats y micro-nichos geográficos que favorecen o no la proliferación de distintos grupos de microalgas. La distribución geográfica de los conglomerados de estaciones, parecen ser reflejo de barreras y/o condiciones que ocurren anualmente (escala mensual de la base de datos utilizada), moduladas por ejemplo: canales exteriores conectados con aguas oceánicas, canales interiores conectados a aguas de glaciar, barreras físicas como islas Desertores en la región de Los Lagos; paso Kirke en la región de Magallanes norte; cabo Froward en el estrecho de Magallanes; zonas umbrales entre océano y fiordos, que difieren en las tres regiones).

f) La densidad máxima promedio entre octubre 2007-febrero 2019 alcanzada por el fitoplancton y por diatomeas fue superior en 1-2 magnitudes a la de los dinoflagelados. Las mayores densidades promedio de dinoflagelados ($>20.000 \text{ cél L}^{-1}$) ocurren en rangos de densidad promedio por periodo de años de fitoplancton y/o diatomeas, entre los 200.000 y 900.0000 cél L^{-1} , y en sectores geográficos distantes. En cambio, las mayores densidades de células promedio por periodo de años de diatomeas ($>1.000.000 \text{ cél L}^{-1}$) y fitoplancton, ocurren principalmente en un sector geográfico determinado.



g) Las variaciones espacio temporales de las abundancias relativas de *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, si bien presentan diversos rasgos semejantes en su distribución y abundancia, también muestran diferencias que no sólo son evidentes entre regiones administrativas sino también entre los sectores en que se ha dividido cada región para fines logísticos del estudio.

h) Los resultados muestran que existen procesos de macro escala que regulan la distribución y abundancia de *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, pero al mismo tiempo las condiciones locales determinarían las particularidades de la distribución y abundancia de los taxones de dinoflagelados estudiados.

i) En el sistema de fiordos y canales, las variaciones espacio temporales de la abundancia de *A. catenella* y *A. ostenfeldii* son diferentes, como también entre las especies de *D. acuminata* y *D. acuta*, no obstante que estas últimas muestran algunas semejanzas. Las variaciones espacio temporales de *D. acuminata* y *P. reticulatum* muestran similitudes que sugieren que tienen determinados requerimientos ambientales similares, no obstante, las diferencias marcadas en sus respectivos ciclos de vida y de habitat.

j) La serie de tiempo con datos mensuales entre octubre 2007 y febrero 2019 mostró que existe una diferenciación clara de temperatura media entre las tres regiones, registrándose el valor más alto en Los Lagos (11.8 ± 0.9 °C) el valor más bajo en Magallanes (8 ± 0.8 °C) y un valor intermedio en Aysén (10.7 ± 0.6 °C). La temperatura presenta una marcada estacionalidad en las tres regiones: luego de invierno la temperatura comienza a aumentar de manera importante en el mes de octubre alcanzando valores máximos anuales entre enero y febrero, para luego disminuir marcadamente en abril, alcanzando las temperaturas más bajas entre julio y agosto. Un incremento claro de temperaturas máximas y mínimas ha ocurrido en Magallanes sur (Canal Beagle) desde el año 2017, alcanzando temperaturas máximas históricas (2017: 10.4 ± 1.2 °C, 2018: 11 ± 1.6 , 2019: 12 ± 0.7 °C).

k) La salinidad no presenta un patrón estacional tan claro durante la serie de tiempo en las áreas de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, sin embargo, algunos años muestran salinidades más elevadas durante meses de invierno y más bajas en primavera y verano. Las áreas de Tortel y Magallanes norte presentan las más bajas salinidades medias a lo largo de toda la serie de tiempo, probablemente como consecuencia de los importantes aportes de agua dulce provenientes de ríos con caudales importantes y campos de hielo norte y sur, respectivamente.

l) El análisis de la serie de tiempo entre el 2013 y 2018 de los subprogramas Fiscalización y Vigilancia y Raúl Marín Balmaceda (RMB) para *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, reveló que el estrato de 0-10 m presentó consistentemente una mayor abundancia y



probabilidad de detectar la presencia de estas especies nocivas en comparación con el estrato 10-20 m. La abundancia y probabilidad de detectar la presencia de estas especies es diferente en las distintas zonas. Así, es más probable detectar a *A. catenella* y *P. reticulatum* en Melinka; y es más probable de detectar a *D. acuminata*, *D. acuta* y *A. ostenfeldii* en RMB. La abundancia y probabilidad de detectar especies nocivas varió a través de los años, siendo 2016 particularmente relevante para que se produzca una alta abundancia y probabilidad de presencia de *A. catenella*, *D. acuminata* y *P. reticulatum*. El rango de meses en que se puede observar una mayor abundancia y probabilidad de detectar especies nocivas varió tanto en la amplitud como en los meses que este rango consideró. Se identificaron estaciones que muestran consistentemente una mayor probabilidad de alcanzar altos niveles de Abundancia Relativa para las distintas especies. Estas estaciones podrían ser utilizadas como referencias para la generación de alertas temprana de floraciones y para ser consideradas como áreas fuentes, en períodos críticos, para la modelación de dispersión de partículas.

m) Se entregan evidencias para 4 de los 5 taxones considerados (*P. reticulatum*, *D. acuminata*, *A. catenella* y *D. acuta*), que responden con las mismas tendencias de incremento o decremento en sus abundancias, en períodos estacionales y sectores geográficos determinados, independientemente que las condiciones ambientales en fiordos y canales, generen abundancias diferenciales con la latitud y en sectores específicos de cada región administrativa.

n) Las abundancias relativas de los 5 taxones de *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*, muestran para el período estudiado un cambio ambiental de gran cobertura geográfica que separa un periodo, con bajas abundancias entre 2007 y 2011, de otro de mayor abundancia de estas microalgas, definido entre 2012 y 2018, con un período de transición en el otoño invierno de 2012.

o) La realización de un análisis segregando la información por sectores geográficos localizados (e.g. Aysén sur) y para el período de primavera verano permitirán incrementar la correlación entre las variaciones de las abundancias de al menos 4 de los taxones estudiados, *P. reticulatum*, *D. acuminata*, *A. catenella* y *D. acuta*.

p) Se ha mejorado la forma de distribuir la información y se ha lanzado una segunda versión de la aplicación i-FAN. Ahora se difunden 5 taxones nocivos de dinoflagelados, usando un semáforo. La vinculación con el medio, particularmente con grupos objetivo clave, independientemente que no existe un criterio único para difundir, capacitar y educar respecto de las FAN, se insiste en que se deben aplicar criterios ajustados a las experiencias de cada grupo, y en ese contexto, deben ser considerados los rasgos y capacidades a nivel local, de forma tal que los contenidos a entregar y las técnicas a utilizar, sean apropiados para cada grupo objetivo. Dado que este tipo de actividad, debe ser concebida en el largo plazo, su planificación debe considerar estrategias de corto, mediano y largo plazo, adaptada a cada grupo objetivo, y evaluada. Y finalmente dada la enorme cobertura geográfica



que debe ser considerada, es importante también establecer alianzas interinstitucionales que permitan ampliar la red de difusión. Se entregan antecedentes del taller de cierre, hubo 6 presentaciones, se hizo vía telemática y contó con un máximo de 125 asistentes. Además, se informa sobre actividades parcialmente financiadas por el programa como el desarrollo de un taller internacional sobre microalgas nocivas y mortandades masivas de peces y otros organismos acuáticos, y la concurrencia de un miembro del grupo (Jorge Mardones) a un simposio internacional realizado en Canadá.

q) En el clado *Karenia selliformis* existen al menos tres filotipos (= ribotipos): 1) la secuencia chilena aislada en 1999 (CH_1999) (Filotipo I), 2) secuencias NZ (Filotipo II); y 3) CN / TN más las secuencias patagónicas en este estudio (Phylotype III). Los filotipos de *K. selliformis* comparten características morfológicas: 1) Los tamaños de célula varían de 20-30 μm de largo y 16-30 μm transdiámetro, 2) cloroplastos de color verde amarillo con pirenoides, 3) Episoma generalmente más pequeño que el hiposoma, 4) Núcleo oblongo posicionado horizontalmente en el hiposoma, 5) Cingulum descendente desplazado por 1-1.5x el ancho cingular, y 6) Surco apical recto que desciende aproximadamente 1/5 de la célula longitud y se une al margen del surco derecho y con la intrusión del surco izquierdo generalmente estrecha pero abierta sobre la epiteca.

r) *K. selliformis* CREAM_KS02 posee 19'-hexanoil-oxifucoxantina como carotenoide primario (rico en acil-oxifucoxantina) con 2 como pigmento minoritario. La cepa CREAM_KS02, además de los derivados de acil-oxifucoxantina, también produjo pigmentos fotoprotectores del ciclo de la xantofila diadinoxantina y diatoxantina. La diadinoxantina se puede transformar en diatoxantina cuando se expone a un alto estrés lumínico y la incidencia de estos pigmentos depende en gran medida del historial de luz.

s) La ausencia de gimnodiminas (GYM) en las cepas chilenas de *K. selliformis* representa el primer registro de cultivos de esta especie no productores de GYM y está de acuerdo con la no detección de GYM en muestras de campo de la floración masiva de 2018 en los fiordos patagónicos (IFOP, datos sin publicar). Queda abierta la interrogante de la fuente primaria de la GYM, puesto que se ha detectado en aguas chilenas, y no se puede descartar a *Alexandrium ostenfeldii*.

t) La mayoría de los dinoflagelados, como *Karenia*, se replican muy lentamente, menos de una vez al día, pero este estudio demostró que *K. selliformis* cepa CREAM_KS02 podía alcanzar altas tasas de crecimiento (máx. $1.46 \pm 0.23 \text{ día}^{-1}$) y alta biomasa (máx. $11,800 \pm 904 \text{ células mL}^{-1}$) cuando se cultivaba autotróficamente in vitro. Estas tasas de crecimiento están muy por encima de las reportadas para otras cepas de esta especie. La cepa chilena CREAM_KS02 creció en un amplio rango de salinidad y temperaturas, lo que podría permitir el crecimiento de esta especie en las aguas costeras oceánicas, así como en los sistemas estuarinos. Las tasas de crecimiento más altas se alcanzaron a altas temperaturas, especialmente a las esperadas en veranos más cálidos excepcionales y alta



salinidad. Se entregan resultados que tienen importantes implicaciones para la mitigación y el manejo de las posibles floraciones de *K. selliformis* para la industria del salmón, especialmente porque hasta ahora solo se han observado floraciones de *Karenia* en las aguas costeras oceánicas.

u) Los resultados de muestran la potencial utilización del “metabarcoding” como herramienta complementaria al monitoreo del fitoplancton en las Costas Chilenas. Los resultados son el corolario de la secuenciación masiva de muestras recolectadas en diez sitios de muestreo durante la primavera/verano 2018-2019. El porcentaje de asignación taxonómica lograda en este estudio (57.3%) plantea la posibilidad de que el número de OTUs no asignadas (42.7%) podrían corresponder a especies no descritas para la costa chilena. Ello motiva a continuar con la implementación de la identificación molecular para así describir organismos no conocidos, lo cual incluye el aislamiento e identificación de especies recogidas desde muestras ambientales.

v) Los resultados preliminares permitieron identificar algunas especies que han generado floraciones en Chile, lo cual valida la utilización del “metabarcoding” como herramienta complementaria al monitoreo realizado por el Instituto de Fomento Pesquero, sin embargo y debido a la alta cantidad de información generada durante este tipo de estudios, se debe también describir la variación en otro grupo de organismos como las diatomeas las cuales también muestran abundancias elevadas durante periodos específicos, lo cual permitirá comprender las dinámicas comunitarias y poblacionales basados en la interacción de diferentes organismos en la red de sitios de muestreo de este programa, incluyendo otros grupos de organismos detectados en abundancias elevadas como los amebosoa, los cuales estuvieron sobre representados en enero 2019 en dos estaciones de muestreo.

w) La utilización de esta técnica debe ser validada sobre la base de observaciones en periodos más extensos y considerando un número mayor de estaciones de muestreo, para abarcar de mejor manera la heterogeneidad ambiental característica en fiordos y canales, así como en zonas del océano expuesto donde las floraciones de nuevas especies han comenzado a ser recurrentes. Por tanto, el uso de este tipo de herramientas es necesaria y complementaria al monitoreo tradicional, permite identificar potenciales especies nocivas que se encuentren en bajas concentraciones y que morfológicamente son difíciles de identificar debido a su pequeño tamaño o que sus caracteres taxonómicos no son distinguibles mediante microscopia de luz.

x) Consecuentemente, la técnica del “metabarcoding” continuará implementándose en la etapa (2020-2021) del programa con la incorporación de 10 estaciones adicionales que forman parte del monitoreo regular y de forma complementaria se continuará con el diseño de marcadores específicos para la identificación y cuantificación de taxones nocivos mediante PCR cuantitativa (qPCR).



ÍNDICE GENERAL

Resumen ejecutivo	i
ÍNDICE GENERAL	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE TABLAS	xxvii
ANEXOS	xxviii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
3. OBJETIVOS	7
3.1 Objetivo general	7
3.2 Objetivos específicos	7
4. METODOLOGÍA	9
4.1 Metodología Objetivo Específico 1	9
<u>Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizantes (TPM), diarreica (TDM) y amnésica (VAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio.</u>	
4.2. Metodología Objetivo Específico 2	16
<u>Registrar variables oceanográficas y biológicas en zonas representativas del área de estudio para continuar la modelación físico-biológico de <i>Alexandrium catenella</i>.</u>	
4.3 Metodología Objetivo Específico 3	19
<u>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.</u>	
4.4 Metodología Objetivo Específico 4	26
<u>Difundir periódicamente la información generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.</u>	
4.5 Metodología Objetivo Específico 5	28
<u>Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva <i>Karenia selliformis</i> y de la aplicación de la técnica molecular de metabarcoding para el monitoreo de microalgas nocivas.</u>	



5. RESULTADOS	34
5.1. Objetivo Específico 1	34
<u>Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizantes (TPM), diarreica (TDM) y amnésica (VAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio.</u>	
5.2. Objetivo Específico 2	58
<u>Registrar variables oceanográficas y biológicas en zonas representativas del área de estudio para continuar la modelación físico-biológico de <i>Alexandrium catenella</i>.</u>	
5.3 Objetivo Específico 3	67
<u>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.</u>	
5.4 Objetivo Específico 4	93
<u>Difundir periódicamente la información generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.</u>	
5.5. Objetivo Específico 5	99
<u>Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva <i>Karenia selliformis</i> y de la aplicación de la técnica molecular de metabarcoding para el monitoreo de microalgas nocivas.</u>	
6. DISCUSIÓN	102
7. CONCLUSIONES	128
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	137



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 4.1.1. Sitios de muestreo en las regiones de Los Lagos y de Aysén. Los colores indican a que subprograma corresponden.

Figura 4.1.2. Sitios de muestreo en la región de Magallanes. Todos los sitios corresponden al subprograma regular.

Figura 4.1.3. Sitios de muestreo en la región de Los Lagos. Los puntos verdes representan aquellos que tienen el muestreo habitual. Los puntos con verde y rojo representan sitios que se agrega además la toma de muestras para nutrientes. El sitio L05N1 pasará a verde y rojo.

Figura 4.1.4. Sitios de muestreo en la región de Aysén. Los puntos verdes representan aquellos que tienen el muestreo habitual. Los puntos con verde y rojo representan sitios que se agregan además para estimaciones de nutrientes.

Figura 4.1.5. Sitios de muestreo en la región de Magallanes. Los puntos verdes representan aquellos que tienen el muestreo habitual. Los puntos con verde y rojo representan sitios que se agregan además para estimaciones de nutrientes.

Figura 4.2.1 Grilla y discretización horizontal para el modelo de a) Puyuhuapi-Jacaf y b) regional.

Figura 4.2.2. Ubicación y diseño de los anclajes.

Figura 4.3.1. Ubicación de las nueve estaciones estudiadas en el fiordo Reloncaví.

Figura 4.5.1. Estaciones de muestreo analizadas en este estudio.

Figura 5.1.1. Distribución espacial y temporal de la concentración de Nitrato NO_3 μM para el estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la región de Los Lagos hasta la región de Magallanes.

Figura 5.1.2. Distribución espacial y temporal de la concentración de Nitrato NO_3 μM para el estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la región de Los Lagos hasta la región de Magallanes.

Figura 5.1.3. Distribución espacial y temporal de la concentración de nitrito (NO_2 μM) para el estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la región de Los Lagos hasta la región de Magallanes.



Figura 5.1.4. Distribuci3n espacial y temporal de la concentraci3n de nitrito (NO_2 uM) para el estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.5. Distribuci3n espacial y temporal de la concentraci3n de Fosfato PO_4 uM para el estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.6. Distribuci3n espacial y temporal de la concentraci3n de Fosfato PO_4 uM para el estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.7. Distribuci3n espacial y temporal de la concentraci3n de Silicato $\text{Si}(\text{OH})_4$ uM para el estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.8. Distribuci3n espacial y temporal de la concentraci3n de Silicato $\text{Si}(\text{OH})_4$ uM para el estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.9. Distribuci3n espacial y temporal de temperatura $^{\circ}\text{C}$ promedio del estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.10. Distribuci3n espacial y temporal de temperatura $^{\circ}\text{C}$ promedio del estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.11. Distribuci3n espacial y temporal de salinidad PSU promedio del estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.12. Distribuci3n espacial y temporal de salinidad PSU promedio del estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.13. Distribuci3n espacial y temporal de densidad Kg/m^3 promedio del estrato 0-10m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.14. Distribuci3n espacial y temporal de densidad Kg/m^3 promedio del estrato 10-20m, entre marzo 2019 y febrero 2020 desde la regi3n de Los Lagos hasta la regi3n de Magallanes.

Figura 5.1.15. Quistes de resistencia registrados en sedimentos de las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes durante diciembre 2019 y febrero 2020. **A.** *Alexandrium catenella*. **B.** *Alexandrium ostenfeldii*. **C.** *Protoceratium reticulatum*. **D.** *Spiniferites pachydermus*. **E.** *Spiniferites ramosus*. **F.**



Pentapharsodinium dalei. **G** y **H**. *Scrippsiella patagonica*. **I**. *Scrippsiella* sp. **J**. *Gyrodinium undulans*. **K**. *Archaeperidinium minutum*. **L**. *Archaeperidinium constrictum*. **M**. *Protoyperidinium americanum*. **N**. *Protoyperidinium americanum*. **Ñ**. *Protoyperidinium claudicans*. **O**. *Protoyperidinium conicum*. **P** y **Q**. *Protoyperidinium conicoide*. **R**. *Protoyperidinium denticulatum*. **S**. *Protoyperidinium leonis*. Barras de escala: 10 μm .

Figura 5.1.16. Quistes de resistencia registrados en sedimentos de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes durante 2019 y febrero 2020. **A**. *Protoyperidinium excentricum*. **B**. *Protoyperidinium pentagonum*. **C**. *Protoyperidinium subinermis*. **D**. *Protoyperidinium tricingulatum*. **E** y **F**. *Protoyperidinium thorianum*. **G**. *Protoyperidinium* sp. 3. **H**. *Protoyperidinium* sp. 4. **I**. *Protoyperidinium* spp. **J**. *Niea acanthocysta*. **K**. *Preperidinium meunieri*. **L**. *Polykrikos schwartzii*. **M**. No identificado 1. **N**. No identificado 2. **Ñ**. No identificado 9. **O**. No identificado 10. **P**. No identificado 13. **Q**. No identificado 14. **R**. No identificado 33. **S**. No identificado 34. Barras de escala: 10 μm .

Figura 5.2.1. Evolución temporal de concentración de *A. catenella* modelada a lo largo del canal Puyuhuapi y Jacaf.

Figura 5.2.2. Distribución vertical promedio de *A. catenella*.

Figura 5.2.3. Distribución horizontal de concentración modelada (derecha) y muestreada (izquierda) de *A. catenella* a lo largo del canal Puyuhuapi y Jacaf.

Figura 5.2.4. Dispersión de partículas de diciembre para las estaciones de muestreo con abundancia relativa 4 para el mes de noviembre.

Figura 5.2.5. Abundancia relativa de *A. catenella* para los meses de noviembre (a) y diciembre (b) de las estaciones de muestreo del proyecto de marea.

Figura 5.2.6. Distribución de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), salinidad y sigma-t en el anclaje de Jacaf, entre los meses de noviembre de 2018 y marzo de 2019.

Figura 5.2.7. Distribución de clorofila (mg L^{-1}) a 10m y *A. catenella* (cel L^{-1}).

Figura 5.2.8. Distribución de nitrato (μM), nitrito, fosfato (μM) y silicato (μM) en el anclaje de Puyuhuapi.

Figura 5.2.9. Distribución de razón N: P en el anclaje de Puyuhuapi.

Figura 5.2.10. Distribución de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), salinidad y sigma-t (kg m^{-1}) en Jacaf.

Figura 5.2.11. Distribución de clorofila (mg L^{-1}) a 10m y *A. catenella* (cel L^{-1}).



Figura 5.2.12. Distribución de nitrato, nitrito (μM), fosfato (μM) y silicato (μM) en el anclaje de Jacaf.

Figura 5.2.13. Distribución de razón N: P en el anclaje de Jacaf.

Figura 5.2.14. Modelo conceptual de la dinámica del crecimiento y distribución de *A. catenella*.

Figura 5.2.15. Concentraciones celulares de *A. catenella* a distintos rangos de temperatura y salinidad. a) Región de los Lagos, b) Región de Aysén y c) Región de Magallanes. La leyenda de círculos de colores y tamaños representa la escala progresiva de la densidad celular de *A. catenella* (células L^{-1}).

Figura 5.2.16. Tasas de máximo crecimiento de *A. catenella* a distintos rangos de temperatura y salinidad.

Figura 5.2.17. Representación gráfica del cálculo de la tasa de crecimiento a distintas combinaciones de temperatura y salinidad.

Figura 5.2.18. Tasas de máximo crecimiento de *A. catenella* a distintos rangos de luz y nutrientes.

Figura 5.2.19. Función de mortalidad por efecto de la temperatura.

Figura 5.2.20. Representación gráfica del cálculo de la tasa de crecimiento a distintas combinaciones de temperatura y salinidad, considerando las pérdidas totales (mortalidad).

Figura 5.2.21. Estaciones de muestreo campaña oceanográfica realizada en los canales Jacaf y Moraleda y fiordo Puyuhuapi, febrero de 2018.

Figura 5.2.22. Registro de las anomalías de energía potencial en las estaciones de muestreo campaña oceanográfica realizada en los canales Jacaf y Moraleda y fiordo Puyuhuapi, febrero de 2018.

Figura 5.2.23. Densidad celular de *A. catenella* (cel L^{-1}) en las estaciones de muestreo campaña oceanográfica realizada en los canales Jacaf y Moraleda y fiordo Puyuhuapi, febrero de 2018. Las estaciones de muestreo se detallan en la Figura 5.2.21.

Figura 5.2.24. Concentraciones celulares de *A. catenella* a distintos rangos de temperatura y salinidad en la Región de Aysén. Los valores representan las diferencias entre la temperatura y la salinidad en los estratos de 0 a 10 y 10 a 20 metros de profundidad.

Figura 5.2.25. Distribución de la Temperatura (A), Salinidad (B) y Concentraciones celulares de *A. catenella* (C) durante la floración de 2009 en la región de Aysén.



Figura 5.2.26. Distribución de la Temperatura (A), Salinidad (B) y Concentraciones celulares de *A. catenella* (C) durante la floración de 2018 en la región de Aysén.

Figura 5.2.27. Evolución temporal, entre septiembre de 2015 a septiembre de 2016, del patrón de distribución de *A. catenella* común con las especies *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*, *Thalassionema nitzschoides*, *Scrippsiella spp.*, *Chaetoceros spp.* y *Thalassiosira subtilis*.

Figura 5.2.28. Análisis de esta composición fitoplanctónica a través de un escalamiento multidimensional (MDS) para la floración del 2016.

Figura 5.2.29. Análisis de la abundancia relativa de *Alexandrium catenella* durante los veranos de los años 2015 y 2016.

Figura 5.2.30. Análisis de la abundancia relativa de *Alexandrium catenella* durante el verano del año 2018.

Figura 5.2.31. Ejercicio de modelación de partículas con cinco focos de dispersión para evaluar la distribución de *A. catenella* durante el verano de 2018. (amarillo: canal Puyuhuapi; rojo: canal Moraleda; rosado: canal Jacaf; verde: Melinka y azul: puerto Barrientos).

Figura 5.3.1 nMDS de los macro-sectores identificados según la densidad celular promedio mensual, para las regiones de Los Lagos y Aysén (mapa izquierdo) y Magallanes (mapa derecho), de acuerdo a un análisis de conglomerados, para el periodo octubre 2007-febrero 2019. Los acrónimos de los sectores (en rojo) están definidos en el texto.

Figura 5.3.2. Segregación de los sitios de muestreos según la densidad del fitoplancton total al aplicar un análisis de conglomerados y representados en un gráfico nMDS para las regiones de Los Lagos (L), Aysén (A) y Magallanes (M), para el periodo octubre 2007- febrero 2019.

Figura 5.3.3. Segregación de los sitios de muestreos según la densidad total de las diatomeas al aplicar un análisis de conglomerados y representados en un gráfico nMDS para las regiones de Los Lagos (L), Aysén (A) y Magallanes (M), para el periodo octubre 2007- febrero 2019.

Figura 5.3.4. Segregación de los sitios de muestreos según la densidad total de los dinoflagelados al aplicar un análisis de conglomerados y representados en un gráfico nMDS para las regiones de Los Lagos (L), Aysén (A) y Magallanes (M), para el periodo octubre 2007- febrero 2019.

Figura 5.3.5. Correlación de la densidad celular promedio mensual para el periodo octubre 2007-febrero 2019, entre los grupos totales de: A. Fitoplancton vs Diatomeas. El rectángulo gris, indica el sector seno-fiordo Reloncaví, Ar; B. Fitoplancton vs Dinoflagelados. El rectángulo gris indica los



valores mayores de densidad celular que alcanza el grupo de dinoflagelados en los sectores: golfo Corcovado, Fgc; seno-fiordo Reloncaví, Ar y Magallanes norte, Amn.

Figura 5.3.6. Ordenación nMDS de las estaciones de muestreo de acuerdo a la abundancia relativa mensual de *Alexandrium catenella* según un análisis de conglomerados. Las figuras **b**, **c** y **d** muestran un acercamiento (zoom) de los conglomerados que se presentan en la figura **a**. Los símbolos representan a los 54 grupos segregados.

Figura 5.3.7. Series de tiempo para el período comprendido entre octubre de 2007 y febrero de 2019 de la abundancia relativa de *Alexandrium catenella* para 146 estaciones ubicadas en las 9 zonas administrativas desde el estuario Reloncaví (zona Chiloé Norte) hasta el Canal Beagle (Magallanes Sur).

Figura 5.3.8. Ordenación nMDS de las estaciones de muestreo de acuerdo a la abundancia relativa mensual de *Alexandrium ostenfeldii* según un análisis de conglomerados. Las figuras **B**, **C** y **D** muestran un acercamiento (zoom) de los conglomerados que se presentan en la figura **A**. Los símbolos representan a los 54 grupos segregados.

Figura 5.3.9. Series de tiempo para el período comprendido entre octubre de 2007 y febrero de 2019 de la abundancia relativa de *Alexandrium ostenfeldii* para 146 estaciones ubicadas en las 9 zonas administrativas desde el estuario Reloncaví (zona Chiloé Norte) hasta el Canal Beagle (Magallanes Sur).

Figura 5.3.10. Ordenación nMDS de las estaciones de muestreo de acuerdo a la abundancia relativa mensual de *Dinophysis acuminata* según un análisis de conglomerados. Las figuras **B**, **C** y **D** muestran un acercamiento (zoom) de los conglomerados que se presentan en la figura **A**. Los símbolos representan a los 54 grupos segregados.

Figura 5.3.11. Series de tiempo para el período comprendido entre octubre de 2007 y febrero de 2019 de la abundancia relativa de *Dinophysis acuminata* para 146 estaciones ubicadas en las 9 zonas administrativas desde el estuario Reloncaví (zona Chiloé Norte) hasta el Canal Beagle (Magallanes Sur).

Figura 5.3.12. Ordenación nMDS de las estaciones de muestreo de acuerdo a la abundancia relativa mensual de *Dinophysis acuta* según un análisis de conglomerados. Las figuras **b**, **c** y **d** muestran un acercamiento (zoom) de los conglomerados que se presentan en la figura **a**. Los símbolos representan a los 54 grupos segregados.

Figura 5.3.13. Series de tiempo para el período comprendido entre octubre de 2007 y febrero de 2019 de la abundancia relativa de *Dinophysis acuta* para 146 estaciones ubicadas en las 9 zonas administrativas desde el estuario Reloncaví (zona Chiloé Norte) hasta el Canal Beagle (Magallanes Sur).

Figura 5.3.14. Ordenación nMDS de las estaciones de muestreo de acuerdo a la abundancia relativa mensual de *Protoceratium reticulatum* según un análisis de conglomerados. Las figuras **b**, **c** y **d**



muestran un acercamiento (zoom) de los conglomerados que se presentan en la figura a. Los símbolos representan a los 54 grupos segregados.

Figura 5.3.15. Series de tiempo para el período comprendido entre octubre de 2007 y febrero de 2019 de la abundancia relativa de *Protoceratium reticulatum* para 146 estaciones ubicadas en las 9 zonas administrativas desde el estuario Reloncaví (zona Chiloé Norte) hasta el Canal Beagle (Magallanes Sur).

Figura 5.3.16. Gráficos de dispersión de las sumatorias de las abundancias relativas entre los pares de combinaciones de *Alexandrium catenella* (Ac), *A. ostenfeldii* (Ao), *Dinophysis acuminata* (Dacum), *D. acuta* (Dacut) y *Protoceratium reticulatum* (Pr) ordenados por sitio de muestreo (n=146).

Figura 5.3.17. Dendrograma (superior) y gráfico MDS (inferior) del análisis de conglomerados entre sitios de muestreo según las abundancias relativas mensuales entre octubre de 2007 y febrero de 2019, para *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*.

Figura 5.3.18. Gráfico MDS para *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, al aplicar un análisis de conglomerados, según las respectivas contribuciones en abundancias relativas mensuales por sitio de muestreo entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 5.3.19. Gráfico MDS para *Alexandrium catenella* al aplicar un análisis de conglomerados, según las abundancias relativas mensuales por sitio de muestreo entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 5.3.20. Gráficos MDS para *Alexandrium ostenfeldii* (superior) y *Dinophysis acuminata* (inferior) al aplicar un análisis de conglomerados, según las respectivas contribuciones en abundancias relativas mensuales por sitio de muestreo entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 5.3.21. Gráficos MDS para *Dinophysis acuta* (superior) y *Protoceratium reticulatum* (inferior) al aplicar un análisis de conglomerados, según las respectivas contribuciones en abundancias relativas mensuales por sitios de muestreo entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 5.3.22. Gráficos MDS para *Protoceratium reticulatum* (Pr) vs *Dinophysis acuta* (Dacut) (superior) y *Alexandrium catenella* (Ac) vs *D. acuta* (Dacut) (inferior) al aplicar análisis de conglomerados, según las respectivas contribuciones en abundancias relativas mensuales por sitio de muestreo, entre octubre de 2007 y febrero de 2019, para taxones con correlaciones espaciales significativas ($r=0,881$; $r=0,753$; respectivamente $n=146$).

Figura 5.3.23. Gráficos MDS para *P. reticulatum* (Pr) vs *Dinophysis acuminata* (Dacum) (superior) y *Alexandrium catenella* (Ac) vs *Protoceratium reticulatum* (Pr) (inferior), al aplicar análisis de



conglomerados, según las respectivas contribuciones en abundancias relativas mensuales por sitio de muestreo, entre octubre de 2007 y febrero de 2019, para taxones con correlaciones espaciales significativas ($r=0,753$; $r=0,610$; respectivamente; $n=146$).

Figura 5.3.24. Dendrograma (superior) y gráfico MDS (inferior) del análisis de conglomerados entre *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum* según las abundancias relativas mensuales por sitio de muestreo entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 5.3.25. Gráficos de dispersión de las sumatorias de las abundancias relativas entre los pares de combinaciones de *Alexandrium catenella* (Ac), *A. ostenfeldii* (Ao), *Dinophysis acuminata* (Dacum), *D. acuta* (Dacut) y *Protoceratium reticulatum* (Pr) para estaciones del año entre las primaveras de 2007 y 2018 ($n=45$).

Figura 5.3.26. Dendrograma (superior) y gráfico MDS (inferior) del análisis de conglomerados entre estaciones del año según las abundancias relativas estimadas para *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum* entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 5.3.27. Gráfico MDS para *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum* al aplicar un análisis de conglomerados según las respectivas contribuciones en abundancias relativas por estaciones del año, entre octubre de 2007 y diciembre de 2018.

Figura 5.3.28. Gráfico MDS para *Dinophysis acuta* (Dacut) vs *D. acuminata* (Dacum) al aplicar un análisis de conglomerados según las respectivas contribuciones en abundancias relativas por estaciones del año entre octubre de 2007 y diciembre de 2018, con correlación temporal significativa ($r=0,792$; $n=45$).

Figura 5.3.29. Gráfico MDS para *Dinophysis acuta* (Dacut) vs *Protoceratium reticulatum* (Pr) (superior) y *Alexandrium catenella* (Ac) vs *D. acuta* (Dacut) (inferior), al aplicar un análisis de conglomerados según las respectivas contribuciones en abundancias relativas por estaciones del año entre octubre de 2007 y diciembre de 2018, para taxones con correlaciones temporales significativas ($r=0,744$; $r=0,700$; respectivamente; $n=45$).

Figura 5.3.30. Gráfico MDS para *Dinophysis acuminata* (Dacum) vs *Protoceratium reticulatum* (Pr) (superior) y *Alexandrium ostenfeldii* (Ao) vs *D. acuminata* (Dacum) (inferior), al aplicar un análisis de conglomerados según las respectivas contribuciones en abundancias relativas por estaciones del año entre octubre de 2007 y diciembre de 2018, para taxones con correlaciones temporales significativas ($r=0,694$; $r=0,691$; respectivamente; $n=45$).



Figura 5.3.31. Gráfico MDS para *Alexandrium catenella* (Ac) vs *Protoceratium reticulatum* (Pr) y *A. catenella* (Ac) vs *Dinophysis acuminata* (Dacum) al aplicar un análisis de conglomerados según las respectivas contribuciones en abundancias relativas por estaciones del año entre octubre de 2007 y diciembre de 2018, para taxones con correlaciones espaciales significativas ($r=0,690$; $r=0,679$; respectivamente; $n=45$).

Figura 5.3.32. Abundancia media observada para los principales taxones nocivos entre los años 2013 y 2018 por mes y quincena. Meses representados desde el 1 al 12; además los decimales de los meses representan las quincenas e.g. 1.1. y 1.2 indican la primera y segunda quincena del mes de enero.

Figura 5.3.33. Abundancia media observada para *A. catenella* entre los años 2013 y 2018 por zona, y por mes y quincena. Meses representados desde el 1 al 12; además los decimales de los meses representan las quincenas e.g. 1.1. y 1.2 indican la primera y segunda quincena del mes de enero.

Figura 5.3.34. Abundancia media observada para *D. acuminata* entre los años 2013 y 2018 por zona, y por mes y quincena. Meses representados desde el 1 al 12; además los decimales de los meses representan las quincenas e.g. 1.1. y 1.2 indican la primera y segunda quincena del mes de enero.

Figura 5.3.35. Probabilidad media para los distintos niveles de abundancia relativa (AR) observada entre el 2013 y 2018 por mes y quincena. Meses representados desde el 1 al 12; además los decimales de los meses representan las quincenas e.g. 1.1. y 1.2 indican la primera y segunda quincena del mes de enero.

Figura 5.3.36. Probabilidad media para los distintos niveles de abundancia relativa (AR) observada entre el 2013 y 2018 para cada estación.

Figura 5.3.37. Promedio anual (etapa XII) de la abundancia fitoplanctónica total (cellL-1) para el estrato 0-10 metros (rojo) y estrato 10-20 metros (amarillo) de las tres regiones administrativas: a) abundancia promedio anual diatomeas, b) abundancia promedio anual dinoflagelados. Los gráficos de dispersión representan las correlaciones entre los dos estratos para cada una de las regiones.

Figura 5.3.38. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de diatomeas de la región de Los Lagos para la etapa XII a) estrato 0-10 mts, b) estrato 10-20 mts y etapa XI c) estrato 0-10 mts, y d) estrato 10-20 mts.

Figura 5.3.39. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de dinoflagelados de la región de Los Lagos para la etapa XII a) estrato 0-10 mts, b) estrato 10-20 mts y etapa XI c) estrato 0-10 mts, y d) estrato 10-20 mts.



Figura 5.3.40. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de diatomeas de la región Aysén para la etapa XII a) estrato 0-10 mts, b) estrato 10-20 mts y etapa XI c) estrato 0-10 mts, y d) estrato 10-20 mts.

Figura 5.3.41. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de dinoflagelados de la región de Aysén para la etapa XII a) estrato 0-10 mts, b) estrato 10-20 mts y etapa XI c) estrato 0-10 mts, y d) estrato 10-20 mts.

Figura 5.3.42. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de diatomeas de la región de Magallanes para la etapa XII a) estrato 0-10 mts, b) estrato 10-20 mts y etapa XI c) estrato 0-10 mts, y d) estrato 10-20 mts.

Figura 5.3.43. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de dinoflagelados de la región de Magallanes para la etapa XII a) estrato 0-10 mts, b) estrato 10-20 mts y etapa XI c) estrato 0-10 mts, y d) estrato 10-20 mts.

Figura 5.3.44. Serie de datos de temperatura obtenida desde octubre 2007 y febrero 2019 en las áreas de Los Lagos Norte, Los Lagos Centro, Los Lagos Sur, Aysén Norte, Aysén Sur, Tortel, Magallanes Norte, Magallanes Centro, y Magallanes Sur.

Figura 5.3.45. Serie de datos de salinidad obtenida desde octubre 2007 y febrero 2019 en las áreas de Los Lagos Norte, Los Lagos Centro, Los Lagos Sur, Aysén Norte, Aysén Sur, Tortel, Magallanes Norte, Magallanes Centro, y Magallanes Sur.

Figura 5.3.46. Variabilidad espacio-temporal de las condiciones físicas-meteorológicas de la columna de agua, y de especies de dinoflagelados potencialmente tóxicos en el fiordo de Reloncaví en base a una serie temporal de 10 años. (A) temperatura subsuperficial del agua, (B) salinidad subsuperficial, (C) precipitación y caudal del río Puelo, (D) índice Niño 3.4, (E) índice Marshall Southern Annular Mode (SAM), (F) densidad celular de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum*.

Figura 5.3.47. (A) Análisis del índice medio periférico (OMI) de las cinco especies de *Dinophysis* y *P. reticulatum* para todo el período de muestreo en la porción interior del fiordo (estaciones de muestreo 4 a 9). Los vectores azules muestran una relación con las variables físicas y meteorológicas. Las muestras de los períodos primavera-verano y otoño-invierno se representan en naranja y gris, respectivamente. La línea punteada delimita el espacio medioambiental realizado (ej., dominio de muestreo) donde los polígonos amarillo y gris representan los nichos realizados de *D. Acuminata* y *P. reticulatum*, respectivamente. Los puntos negros representan la media de las condiciones de hábitat utilizadas por las diferentes especies (ej., posición de nicho de las especies). Dacum = *D. acuminata*, Dacut = *D. acuta*, Dcau = *D. caudata*, Dpun = *D. punctata*, Dtrip = *D. tripos*, Pret = *P. reticulatum*; Flow = caudal del río Puelo, Niño 3.4 = índice Niño 3.4, N_{BV} = frecuencia de flotabilidad de Brunt-Väisälä,



Pyc = piconclina, Prec = precipitaciones, Sal = salinidad subsuperficial, SAM = Índice Marshal Southern Annular Mode. (B) distribución de la densidad celular de *D. acuminata* y *P. reticulatum* en el espacio multivariado OMI. (C-H) Estimación de la densidad de Kendel (KDE) mostrando la frecuencia de ocurrencia (presencia/ausencia) de *D. acuminata* y *P. reticulatum* relacionado a las diferentes condiciones ambientales. (I, J) Árbol condicional de inferencia mostrando las principales variables asociadas a las floraciones de (I) *D. acuminata* y (J) *P. reticulatum*.

Figura 5.4.1. Imagen de entrada a la aplicación i-FAN. En la parte inferior (resaltada en un cuadro de color), están disponibles los banners con los cuales trabaja esta app.

Figura 5.4.2. En la sección del menú “Semáforos”, se encuentra el significado de cada uno de ellos. Cada color (blanco, verde, amarillo, naranja y rojo), está relacionado con un estado de alerta (situación de ausencia, situación normal, precaución moderada, alerta temprana y situación de riesgo), las que dependen de la escala de abundancia relativa de cada especie presentada (entre 0 a 10).

Figura 5.4.3. En la sección del menú “Alertas”, se encuentran los dos principales monitoreos de marea roja. Al ingresar al banner de Marea Roja Fiordos, se despliegan las áreas asociadas a este Monitoreo, además de la zona de Alta Frecuencia.

Figura 5.4.4. En la sección del menú “Más”, se despliega la información general del Monitoreo, además de noticias, preguntas frecuentes y fotografías.

Figura 5.4.5. Stand del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) presentado en la Fiesta de la Ciencia, Puerto Montt.

Figura 5.4.6. Stand del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) presentado en el Campamento EXPLORA VA, Antillanca, región de Los Lagos.

Figura 5.5.1. Filogenia de las secuencias de ADNr de LSU de cepas de *Karenia selliformis* y especies relacionadas. Los valores de probabilidad bayesianos posteriores se muestran con valores de arranque del análisis de máxima verosimilitud (ML) en cada posición de ramificación. En rojo están las cepas chilenas CREAN obtenidas en este estudio. La barra de escala indica el número de cambios por sitio.

Figura 5.5.2. Micrografías de luz (A-C) y electrónicas de barrido (D-G) de *Karenia selliformis* cepa chilena (CREAN_KS02). (A) Vista dorsal que revela el núcleo alargado horizontal (nu) en el hiposoma (barra de escala: 10um), (B) vista lateral que muestra una compresión dorsoventral insignificante, (D) vista dorsal que muestra el extremo dorsal del surco apical (ag), (E) vista lateral que muestra la ausencia de poros laterales (círculo abierto), (F) vista ventral que muestra la extensión del surco (se) y vistas dorsal / ventral que muestran un hiposoma redondeado con concavidad insignificante (flechas), (G) vista apical que muestra el surco apical recto (ag).



Figura 5.5.3. Perfil de HPLC de pigmentos fotosintéticos de *K. selliformis* cepa chilena que muestra picos de Chl c2, c3 (clorofila c2, c3), But (19'-butanoil-oxifucoxantina), Fuc (fucoxantina), Hex (19'-hexanoil-oxifucoxanthin), Pra (prasinoxanthin), Dia (diadinoxanthin), Diat (diatoxanthin), Gyr (gyroxanthin-diester), Chl a (chlorophyll a) y Car-B (b caroteno). Tiempo de retención en min en el eje x y unidad de absorbancia (AU) a 446nm en el eje y. El grafico inserto (curva naranja) muestra el espectro de absorbancia del diéster de giroxantina.

Figura 5.5.4. Espectro de disociación inducida por colisión (CID) del compuesto a 3,39 min isobárico con brevenal (m/z 657,4)

Figura 5.5.5. A) Toxicidad en las células branquiales producida por sobrenadante (rojo) y suspensiones de células lisadas (gris) de *K. selliformis* a 3 temperaturas y 3 niveles de salinidad (escala de colores de intensidad). Las barras representan la media y las barras de error de la desviación estándar de la viabilidad celular de las mediciones cuadruplicadas; B) Efecto de concentraciones variables de gimnodimina A (0.22 - 220,000 pg / ml) sobre la viabilidad de las células branquiales equivalente a 0.01 a 10,000 células mL^{-1} de *K. selliformis* (eje X superior) según Medhioub et al. (2009). Las barras representan el promedio y las barras de error la desviación estándar de la viabilidad celular de las mediciones por cuadruplicado.

Figura 5.5.6. Efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre las tasas de crecimiento de *K. selliformis*. A) Tasa media de crecimiento específico máximo (μ ; $día^{-1}$) y B) abundancia celular máxima media (células mL^{-1}). Los experimentos de temperatura y salinidad se establecieron de acuerdo con las masas de agua en el área costera costera adyacente (ESSW = Agua Subsuperficial Ecuatorial; SAAW = Agua Subantártica) y en los fiordos internos (MSAAW = Agua Subantártica Modificada; ESW = Agua Estuarina-Salina; EBW = Agua estuarina-salobre), y según sus fluctuaciones esperadas por temporada, veranos más cálidos excepcionales y posible cambio climático.

Figura. 5.5.7. Número de Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs) detectadas a nivel taxonómico de especies por división.

Figura. 5.5.8. Porcentaje de abundancia basado en el número de secuencias obtenidas por OTU para cada nivel de división taxonómica, normalizada por la media de las secuencias totales de cada muestra.

Figura. 5.5.9. Porcentaje de abundancia basado en el número de secuencias obtenidas por OTU para cada phylum, normalizada por la media de las secuencias totales de cada muestra.

Figura. 5.5.10. Porcentaje de abundancia basado en el número de secuencias obtenidas por OTU para cada orden, normalizada por la media de las secuencias totales de cada muestra.



Figura. 5.5.11. Géneros más abundantes, considerando OTUs que representen al menos el 20% de las secuencias presentes en una muestra.

Figura 6.2.1. Tasas estimadas y medidas a lo largo del proyecto, incorporadas al modelo conceptual de la dinámica del crecimiento y distribución de *A. catenella*.



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla. 1.1. Diversidad y abundancia de quistes (quistes mL⁻¹ de sedimento húmedo) en sedimentos de Los Lagos recolectados en diciembre 2019 y febrero 2020.

Tabla. 1.2. Diversidad y abundancia de quistes (quistes mL⁻¹ de sedimento húmedo) en sedimentos de Aysén recolectados en diciembre 2019.

Tabla. 1.3. Diversidad y abundancia de quistes (quistes mL⁻¹ de sedimento húmedo) en sedimentos de Magallanes recolectados en diciembre 2019.

Tabla 3.1. Tabla ANOVA con significancia de factores (Test tipo I) y la residual devianza explicada (R.D.) por cada factor (Test tipo II).

Tabla 3.2. Probabilidad (pb) de presencia de especies nocivas a distintos niveles de: Profundidad, Zona geográfica, Año y Meses. En gris se destaca la mayor probabilidad por factor. Además, se muestra el resultado del test a posteriori Tukey HSD (Tuk.). En esta columna iguales letras indican que no existen diferencias significativas y letras diferentes que si hay diferencias.

Tabla 5.1. Transiciones de masa (m / z Q1> Q3) utilizadas para la detección de brevetoxinas, brevenal y gimnodiminas.

Tabla 5.2. Distancia genética por pares de las regiones LS1 rDNA D1-D2 sobre la base de datos de distancia genética no corregidos entre grupos / secuencia y dentro de grupos de *K. selliformis*.

Tabla 5.3. Composición de pigmentos fotosintéticos de *Karenia selliformis* de Chile (CL), Nueva Zelanda (NZ) y Túnez (TN) como se informa en la literatura y en este estudio.

Tabla 5.4. Composición de ácidos grasos de *K. selliformis* cepa chilena (como% del total de ácidos grasos).



ANEXOS

ANEXO 1. SUB-PROGRAMA DE MONITOREO REGULAR: estaciones de monitoreo entre marzo 2019 y febrero de 2020 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, incluyendo código, topónimo, sectorización, transvector, institución requirente y coordenadas geográficas.

ANEXO 2. SUB-PROGRAMA DE VIGILANCIA Y FISCALIZACIÓN: estaciones de monitoreo entre marzo 2019 y febrero de 2020 en las regiones de Los Lagos y Aysén, incluyendo código, topónimo, sectorización, transvector, institución requirente y coordenadas geográficas.

ANEXO 3. SUB-PROGRAMA DE RAÚL MARÍN BALMACEDA: estaciones de monitoreo entre marzo 2019 y febrero 2020 en un sector de la región de Aysén, incluyendo código, topónimo, sectorización, transvector, institución requirente y coordenadas geográficas.

ANEXO 4. Índice y datos Programa Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en el sistema de fiordos y canales de Chile, Etapa XIII año 2019-2020.

ANEXO 5. Resúmenes asistencia congresos.

ANEXO 6. Conferencias.

ANEXO 7. Coloquios y Talleres científicos.

ANEXO 8. Taller finalización.



1. INTRODUCCI3N

Este documento constituye el informe final del Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en el sistema de fiordos y canales de Chile, XIII etapa a1o 2019-2020, correspondiente al per3odo marzo 2019 – febrero 2020.

Si bien las floraciones de *Alexandrium catenella* en fiordos y canales, detectadas a partir de 1972, esporádicas inicialmente y restringidas a un sector de los fiordos, paulatinamente fueron siendo detectadas en sectores de menor latitud, hoy las evidencias muestran una variedad de taxones nocivos en este sistema que afecta la salud p3blica y las actividades productivas. Esta es una realidad que ha sido asumida en forma progresiva, en la que este estudio refleja el inter3s por disponer antecedentes objetivos y oportunos para minimizar los impactos que ocasionan estas floraciones. Est3 pendiente desde el punto de vista de la inocuidad de los alimentos afectados por biotoxinas, el modificar las normas nacionales, orientadas a aplicar otras normas para evaluar las toxinas lipof3licas. En Chile, la norma oficial sigue siendo el bioensayo rat3n, con todas las limitaciones conocidas, no obstante que para fines de exportaci3n se aplica la espectrometr3a de masas. Este es un desaf3o que debe ser considerado.

Las secuelas de las floraciones de *Pseudochattonella verruculosa* y *Alexandrium catenella* del verano y oto1o de 2016, respectivamente, con notorios efectos sociales y econ3micos en la regi3n de Los Lagos, unidas las frecuentes y recurrentes proliferaciones de microalgas nocivas y brotes t3xicos en mariscos en fiordos y canales, confirman la imprescindibilidad de contar con un sistema de detecci3n confiable y oportuno, de microalgas nocivas y de toxinas marinas, adem3s de las condiciones ambientales, para contar con alertas tempranas para usuarios ligados a la extracci3n de mariscos filtradores y carn3voros, como tambi3n para mejillones de cultivo. Ello tiene relevancia para la salud p3blica, pero tambi3n facilita la minimizaci3n de los impactos sobre actividades productivas como la pesca, la acuicultura y el turismo.

Tambi3n es necesario conocer la distribuci3n y abundancia de *Alexandrium catenella* dado que la legislaci3n y normativa, definen a este tax3n como especie plaga FAN (Floraci3n Algal Nociva), y por lo mismo, en determinados sectores, se debe disponer de informaci3n para administrar la navegaci3n de “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. Y tambi3n es informaci3n pertinente para calificar las categor3as definidas en el reglamento de plagas.

El Programa es de car3cter permanente, desarrollado a trav3s de etapas anuales. Entre marzo de 2019 y febrero de 2020 se ha ejecutado la XIII etapa, en su fase de recolecci3n de informaci3n y datos de terreno. Desde 2013, se aplica un muestreo diferenciado por subprogramas seg3n las necesidades en las distintas 3reas geogr3ficas, sus complejidades y los aspectos que all3 se cautelan, aplicando frecuencias de muestreo y ubicaci3n geogr3fica de los sitios muestreos seg3n las caracter3sticas de cada sector. Bajo este criterio el estudio est3 estructurado en 3 subprogramas: a) Monitoreo Regular, con un muestreo de baja frecuencia; cuasi mensual; b) Monitoreo de Vigilancia y Fiscalizaci3n; y c) Monitoreo de Ra3l Mar3n Balmaceda, estos dos 3ltimos con una alta frecuencia de muestreo, cuasi cada 10 d3as. El detalle y caracter3sticas de cada uno se entrega en la metodolog3a por objetivos.



El estudio mantiene la estructura y organización, y cobertura de temáticas, pero a fin de simplificar la planificación y facilitar la presentación de resultados, pero sin afectar la calidad y cantidad de actividades consideradas, el Programa ha disminuido de ocho a sólo cuatro objetivos específicos.

El primero, engloba lo que estaba distribuido en cuatro objetivos, e incluye el monitoreo propiamente tal, para seguir las variaciones de la toxicidad en mariscos de las toxinas paralizante, lipofílicas y amnésica, de la distribución y abundancia de los taxones nocivos, del fitoplancton total, tanto cualitativo como cuantitativo, además de recolectar información hidrográfica y meteorológica, incluyendo estimaciones de la concentración de nutrientes, y se incluyen muestreos para conocer la variedad y cantidad de quistes de dinoflagelados en los sedimentos.

El segundo objetivo contempla la continuación de la generación de información hidrográfica y ambiental para la modelación de la distribución y abundancia de *A. catenella* en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf, región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, junto con estudios en condiciones de terreno y laboratorio, considerando también la evaluación de otros sectores que eventualmente deberían ser incluidos para abordar aspectos similares en el sistema de fiordos y canales.

El tercer objetivo, aborda el análisis de datos generados por el Programa desde mayo de 2006, profundizando la comprensión lograda desde 2014, resultados incluidos en los informes finales de las etapas VIII, IX, X, XI y XII, y en esta etapa XIII, los énfasis han estado en la continuación de estos análisis, incorporando la representación gráfica, la búsqueda de índices como alerta temprana y explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium* en el área de estudio, pero también un estudio de *P. reticulatum* y *D. acuminata*, en una serie de tiempo de 10 años, para un sector geográfico septentrional de los fiordos; por otro lado se incluye un análisis de los ensambles de fitoplancton en el área de estudio para un lapso de 12 años, disponiendo la información de forma distinta y más comprensiva a la aplicada previamente, como también una comparación entre los ensambles de fitoplancton entre dos estratos de profundidad; se aborda también un análisis de las probabilidades de detección de taxones de *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium* en el sector de muestreo de alta frecuencia en el extremo sur de Chiloé y norte de Aysén, para información disponible desde 2013, y también se estudia la variabilidad espaciotemporal de la temperatura y salinidad durante 12 años.

El cuarto objetivo, considera la difusión de los resultados del Programa y vinculación con el medio, tanto para la adopción de medidas por la Autoridad, como para mostrar en distintos públicos objetivo los resultados del Programa; esto incluye seminario o taller de cierre que considera difusión de resultados, que ha sido abordado telemáticamente. Pero también considera contribuciones en conferencias, seminarios, simposios, y otras actividades permanentes como el reporte periódico de resultados a autoridades sectoriales y la comunidad en general, en distintos formatos y medios, como página web (SIG), aplicación i-FAN, correo electrónico, y otros medios electrónicos de difusión social.

Se agrega un quinto objetivo, para evitar mezclar estos resultados con aquellos comprometidos; se entregan hallazgos diversos sobre *Karenia selliformis*, y resultados de técnicas moleculares para la identificación masiva de microalgas y otros organismos (i.e. "metabarcoding").



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, que asume el costo del análisis de biotoxinas 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

El sistema de fiordos y canales, que incluye las regiones de Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y Magallanes y Antártica Chilena, durante varios años ha mostrado diversas 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. Durante los últimos 48 años, en los fiordos y canales chilenos, se ha detectado una variedad de taxones nocivos en condiciones de floración que afectan la salud pública y las actividades productivas. Han sido citados taxones de distintos géneros, como *Alexandrium*, *Dinophysis*, *Protoceratium*, *Karenia*, *Azadinium*, *Pseudochattonella*, *Margalefidinium*, *Chattonella*, *Pseudo-nitzschia*, *Chaetoceros*, *Leptocylindrus*, *Dictyocha*, entre otros, siendo *Alexandrium* y *Pseudochattonella*, aquellos que han provocado los impactos más severos desde el punto de vista de la salud pública y económico, respectivamente.

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 por el desarrollo de 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 eventos. 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 la comunidad en general, en torno a los aspectos claves de estos eventos 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 conocimientos que permitan predecir la aparición, duración y lugar de ocurrencia de estas floraciones, obligan a fortalecer la prevención, una de cuyas fuentes de información son los programas de monitoreo.

Los datos muestran, para todos los taxones nocivos estudiados, variaciones interanuales y entre sectores en el sistema de fiordos canales, gradientes con la latitud, y reflejando que la región de Aysén, es la que muestra las abundancias más altas de los siete taxones nocivos que son vigilados con mayor



en este estudio. En cuanto a *Alexandrium catenella*, independientemente de la dinámica que ha mostrado la abundancia de este taxón en este espacio geográfico desde 2006, oportunidad en que se inició este Programa, en esta última etapa, en la primavera de 2019 e inicios de 2020, se ha presentado en condiciones de floración, pero no intensa, en la región de Magallanes, en el área norte (provincia de Última Esperanza), en cambio, en la región de Aysén la situación no ha sido similar a etapas previas, y sólo en el área sur de esta región, hubo un incremento en su abundancia, mostrando diferencias con años previos, en que esta microalga mostró floraciones intensas. Durante los dos últimos años, en el extremo norte de Aysén y el extremo sur de Chiloé, tanto a fines de 2018 e inicios de 2019 como a fines de 2019 e inicios de 2020, no han ocurrido incrementos significativos en la abundancia de *A. catenella*, y consecuentemente detecciones de toxina paralizante en mariscos de riesgo para la salud pública, con la intensidad apreciada en años previos. Ello contrasta con lo observado tanto a fines de 2008 e inicios de 2009, fines de 2015 e inicios de 2016, como de fines de 2017 e inicios de 2018 en que hubo floraciones de *A. catenella* en la región de Aysén, por señalar las más destacadas de estos últimos años, y que finalmente determinaron la presencia en condición de floración de esta microalga en el sector sur y este de la isla de Chiloé. El último incremento en la abundancia de esta microalga, alcanzando una floración y presencia de toxina paralizante en mariscos en la isla de Chiloé, fue explicada por condiciones meteorológicas (vientos del sur) registradas a mediados de enero de 2018, que determinaron un transporte pasivo de la microalga desde el extremo norte de Aysén hacia el sur y sureste de la isla de Chiloé, ocasionando una acumulación pasiva de la forma vegetativa de este dinoflagelado y la consecuente detección de toxina paralizante en diversos mariscos. Ello obligó a la autoridad de salud vedar parte importante del litoral de la Isla de Chiloé y sectores adyacentes, a la extracción, transporte, distribución y comercialización de mariscos que acumulan toxina paralizante.

Por otro lado, el género *Karenia* ya citado en un párrafo precedente, es una microalga nociva que ha estado ligada a floraciones adversas en las costas del sur del país, y en este informe se incorporan resultados de *K. selliformis* revisando y comparando las características morfológicas, moleculares y fisiológicas de cepas de esta microalga aisladas en diferentes costas del mundo versus cepas de “*Karenia*” aisladas desde el evento de 2018 en aguas chilenas. Y desde otro ámbito, la implementación de herramientas moleculares para el estudio de las FAN permite la detección y cuantificación de microalgas, ya que detectan en muy bajas concentraciones y con elevada precisión taxonómica. El “metabarcoding” es una técnica reciente en esta área ([Penna y Galluzi, 2013](#); [Donovaro et al 2016](#)), que permite la identificación simultánea de la totalidad de las especies presentes en una muestra usando un fragmento de ADN especie específico (código de barra genómico de la especie), pero su amplificación se logra usando un cebador que es común para un amplio grupo taxonómico ([Rees et al 2014](#)). Las secuencias son contrastadas con otras previamente tipificadas en bases de datos genómicas de libre acceso. Los resultados que se presentan en este informe muestran la potencialidad de esta herramienta para el monitoreo en los fiordos y canales, y cualquier otro sector de las costas del país.

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.

El reglamento sobre Plagas Hidrobiológicas y sus modificaciones, permite 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 el sistema de fiordos y canales del sur de Chile. 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 para evaluar presencia y cantidad de tres complejos de toxinas marinas. Este monitoreo provee la información para la toma de decisiones de la autoridad, además de alimentar una base de datos con antecedentes sobre la dinámica de la distribución y abundancia de las principales especies de microalgas nocivas que se encuentran en las regiones citadas. Por este motivo es menester contar con un registro continuo de las variables monitoreadas a fin de analizar desde una perspectiva espacial y temporal estos eventos.

La finalidad de un programa de monitoreo, es disponer de antecedentes confiables y oportunos para adoptar medidas para proteger 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](#)).

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 que la autoridad pueda adoptar medidas para proteger la salud pública y/o cautelar aspectos ambientales, como 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.



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Disponer de un sistema oportuno de muestreo, detección y cuantificación periódico de microalgas nocivas y toxinas marinas adecuado a la realidad geográfica del sistema de fiordos y canales del sur de Chile.

3.2. Objetivos Específicos

1. Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizante (TPM), diarreica (TDM) y amnésica (TAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio.
2. Registrar variables oceanográficas y biológicas en zonas representativas del área de estudio para continuar la modelación físico-biológico de *Alexandrium catenella*.
3. 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.
4. Difundir periódicamente la información generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.
5. Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva *Karenia selliformis* y de la aplicación de la técnica molecular de “metabarcoding” para el monitoreo de microalgas nocivas.



4. METODOLOGÍA

La metodología se presenta por objetivo específico según las distintas actividades comprometidas.

4.1 Metodología Objetivo Específico 1

Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizante (TPM), diarreica (VDM) y amnésica (VAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio.

Estaciones y frecuencia de muestreo

El área de trabajo comprende todo el sistema de fiordos y canales, que incluye las regiones administrativas de Los Lagos (en adelante Los Lagos), de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (en adelante Aysén) y de Magallanes y Antártica Chilena (en adelante Magallanes). Las estaciones de muestreo pertenecen a una red fija y están dispuestas de manera representativa y en relación a las particularidades de cada sector geográfico. La red de estaciones fijas fue validada en la primera reunión de coordinación con la contraparte técnica y considera un total de 228 sitios de muestreo, el trabajo de campo se extendió entre marzo 2019 y febrero 2020, un detalle de la fecha de muestreo se indica en el Anexo 4.

El estudio está estructurado en 3 subprogramas, con sus respectivas actividades según las necesidades particulares de vigilancia. Aun cuando cada uno entrega resultados según la frecuencia de muestreo definida en cada caso y varios sectores son abordados cuasi simultáneamente, estos se encuentran coordinados bajo una sola administración. Estos subprogramas corresponden al Monitoreo Regular, Monitoreo de Fiscalización y Vigilancia, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.

El área de estudio ha sido dividida en 9 sectores, usando distintos puertos de zarpe. De norte a sur, estos son Chiloé norte, Chiloé centro, Chiloé sur, Aysén norte, Aysén sur, Tortel, Magallanes norte, Magallanes centro y Magallanes sur. Sólo Chiloé norte, tuvo varios lugares de zarpe, ya que los sectores restantes, sólo tienen un puerto de zarpe. En Chiloé norte los zarpes fueron desde diversos puntos, 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), Hueihue (1 punto), Hualaihué (1 punto), Hornopirén (1 punto) y Pichicolo (1 punto). En Chiloé centro, zarpe desde Dalcahue; Chiloé sur, zarpe desde Quellón; sectores de Aysén norte y Aysén sur, zarpe desde Puerto Aysén; Tortel, zarpe desde Tortel; Magallanes norte, zarpe desde Puerto Natales; Magallanes centro, zarpe desde Punta Arenas y Magallanes sur, zarpe desde Puerto Williams.



Subprograma Monitoreo Regular:

Tiene como objetivo el monitoreo de 205 estaciones ubicadas desde Los Lagos a Magallanes. La frecuencia de muestreo fue cuasi mensual con un receso invernal de 45 días aproximadamente (meses de julio-agosto). Se mantuvo la red de estaciones establecida para la etapa previa de este programa. Se realizaron 11 cruceros en todas estas estaciones, empezando el primer crucero en marzo de 2019 y finalizando en febrero de 2020. En cada estación 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 hidrográficos y meteorológicos. También en esta oportunidad se recolectaron, en sitios selectos, muestras de sedimentos para el estudio de quistes de dinoflagelados. La metodología para el análisis de fitoplancton, detección de toxinas, toma de datos hidrográficos y meteorológicos, y muestreo de sedimentos para quistes se detalla más adelante y corresponde a la adoptada en etapas previas. Las estaciones muestreadas se encuentran detalladas en figuras 4.1.1 y 4.1.2. y Anexo 1.

Subprograma Fiscalización y Vigilancia:

Este subprograma considera 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 en el sector de Melinka, a fin de obtener información ligada al transporte de especies hidrobiológicas en sectores con presencia de la especie plaga *A. catenella*. El detalle de las estaciones y su ubicación se encuentra en la Figura 4.1.1. y Anexo 2. La frecuencia de muestreo para estas estaciones fue cuasi 10 días, con un receso invernal de 30 días, completando un total de 31 cruceros en un ciclo anual. El trabajo de terreno fue entre marzo de 2019 y febrero de 2020, ambos meses inclusive. En cada uno de los puntos de muestreo, se realizaron 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 permitió y toma de datos hidrográficos y meteorológicos. Al igual que para el Subprograma Regular, la metodología para el análisis de fitoplancton, detección de toxinas, toma de datos hidrográficos y meteorológicos, se detallan más adelante, y corresponde a la adoptada en etapas previas.

Subprograma Raúl Marín Balmaceda

Este subprograma genera información con un fin distinto a aquel indicado para el subprograma de Fiscalización y Vigilancia, pues en este caso tiene relevancia para la calificación del sector según las normas establecidas en el reglamento de plagas. La frecuencia de muestreo es cuasi cada 10 días con un receso invernal de 30 días en 6 estaciones ubicadas en los sectores de Canal, Brazo del Pillán y frente a la desembocadura del río Palena (Fig. 4.1.1; Anexo 3). Se realiza un total de 31 cruceros entre marzo de 2019 y febrero de 2020. En cada una de las estaciones se realizaron las siguientes actividades; 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 de recursos lo permitieron, recolección de muestras de agua para estimación de concentración de nutrientes, y toma de datos hidrográficos y meteorológicos. La metodología para el análisis de fitoplancton, detección de toxinas, toma de datos oceanográficos y meteorológicos, se detalla más adelante y corresponde a la adoptada por el Programa en etapas previas.



Se deja constancia que tanto el Monitoreo de Fiscalización y Vigilancia (MFV) como el Monitoreo Raúl Marín Balmaceda (RMB), incluyen un muestreo mensual que es identificado como muestreo regular y que es correspondiente con los muestreos del Subprograma Regular, de tal forma que, de los 31 cruceros para los sectores de alta frecuencia, 20 corresponden a MFV y MRMB, respectivamente y 11 son muestreos regulares. En un mes de los tres muestreos considerados para ese lapso, el primero y el último, son de MFV y RMB, y el segundo corresponde al muestreo regular. Y son identificados como tal en la base de datos, si bien todos corresponden a un sector sometido a muestreo de alta frecuencia.

Actividad N°1. Vigilar las variaciones espacio temporales del TPM, TDM y TAM en transvectores selectos en una red de estaciones que cubra representativamente los sectores que comprenden los subprogramas de Monitoreo Regular, Monitoreo de Fiscalización y Vigilancia, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.

Muestreo transvectores y detección toxinas

El muestreo se orientó hacia especies centinelas en cada región (e.g. cholga, chorito, almeja, entre otras), sin perjuicio de la recolección de otros recursos según las necesidades, desde el punto de vista de la salud pública, u otras particularidades de cada región.

La recolección de estos recursos por región administrativa fue según lo indicado en el cuadro 1, y se condiciona además a si la ubicación de la estación de monitoreo permite la extracción de estos recursos, ya sea por la profundidad existente o por la disponibilidad de recurso en el sector.

Cuadro 1. Especies transvectoras para la detección de TPM, TDM y TAM, en el área de estudio.

Región	Especies transvector
Los Lagos	Cholga (<i>Aulacomya atra</i>) Chorito (<i>Mytilus chilensis</i>) Almeja (<i>Venus antiqua</i>)
Aysén	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>) Huepo (<i>Ensis macha</i>)* Ostión del sur (<i>Chlamys vitrea</i>)**

*para 3 sitios de muestreo en el Estrecho de Magallanes

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

Se recolectaron especímenes de talla comercial mediante buceo semiautónomo. Cada muestra fue de aproximadamente 2 kilogramos de marisco con concha. La extracción de los transvectores obedece a la disponibilidad de estos recursos en cada sector. Para las muestras destinadas a la detección de TPM, se recolectaron muestras con réplica, la cual se extrae en un mismo sector con unos 500 m de distancia. Sólo en la región de Aysén, se recolectaron muestras de otros transvectores.



Las muestras fueron etiquetadas y almacenadas en bolsas plásticas para conservarlas en recipientes con hielo o refrigeradas y transportadas en embarcaciones menores, las que, una vez en puerto, se congelaron a -20°C hasta el momento de su análisis.

Las muestras de transvectores para determinar la toxicidad por TPM, TDM y TAM fueron entregadas a los laboratorios de las Secretarías Regionales Ministeriales de Salud de Los Lagos, Aysén y Magallanes, según coordinaciones efectuadas a través del Ministerio de Salud (Subsecretaría de Salud Pública). Se mantuvo un registro de las entregas y recepciones mediante un formulario establecido para el efecto.

La detección y cuantificación de las biotoxinas consideradas corresponde a las metodologías oficiales de Chile.

Para la detección de TPM fue el bioensayo ratón según norma [A.O.A.C. 959.08 \(1990\)](#) con determinación del Factor de Corrección (FC) y uso de saxitoxina estándar. Se estimó periódicamente el FC para el período de estudio y para ratones CF-1 (Instituto de Salud Pública) entre 18-21 g. Los resultados fueron 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 aplicó la técnica modificada de [Yasumoto et al \(1984\)](#), y los resultados presentados en forma cualitativa según 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 amnésica fue estimada por cromatografía líquida de alta eficacia según la metodología de [Quilliam et al \(1995\)](#). Los resultados se presentan en microgramos de ácido domoico por gramos de carne de marisco ($\mu\text{g g}^{-1}$).

Toda la información de resultados de toxicidad en mariscos, es entregada tabulada, con las unidades para resultados cuantitativos, o según corresponda para resultados cualitativos (en el caso de TDM). Los resultados se entregan por estación y crucero, distribuidos por cada región administrativa.

Actividad N°2 Conocer la abundancia y distribución espacio-temporal de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, en la señalada red de estaciones.

Actividad N° 3. Conocer la abundancia y distribución espacio temporal de especies que componen el fitoplancton en la red de estaciones de estudio.

Estaciones y frecuencia de muestreo:

Las estaciones (Figs. 1.1-1.3; Anexos 1 - 3) y frecuencias detalladas por Subprograma están indicados en el primer punto de este objetivo.



Muestreo de fitoplancton

El muestreo de fitoplancton se realizó en las 228 estaciones del estudio. La metodología para el análisis cualitativo y cuantitativo del fitoplancton fue el siguiente:

- i. Muestreo cualitativo: el fitoplancton fue recolectado mediante arrastres verticales desde 20 m de profundidad como máximo hasta la superficie o según profundidad del lugar, usando una red de trama de malla de 23 μ m. Los arrastres fueron realizados en triplicado (3 réplicas), en dos lugares en cada punto de muestreo de cada estación, separados entre sí por aproximadamente 300 m. Las muestras fueron fijadas con formalina neutralizada al 2-3% y de cada punto se conformó una sola muestra (i.e. una muestra integrada de seis arrastres).
- ii. Muestreo cuantitativo: la recolección se realizó muestreando 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 estratos; el primer estrato de superficie a 10 m y el segundo de 10 a 20 m de profundidad (se recolectó una muestra por estrato).

Análisis de fitoplancton

- i. Análisis cualitativo: se utilizaron microscopios ópticos de campo luminoso, a 100x y 400x, dotados con condensador de contraste de fase y equipo de epi-fluorescencia. Se estimó la abundancia relativa para *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, para lo cual se contabilizó el número de células en una alícuota de 0,1 ml, bajo un cubre-objeto de 18 x 18 mm y tomada de una muestra sedimentada (3 réplicas por muestra) (Cuadro 2). Sin perjuicio de lo anterior, se identificaron todas las microalgas de la muestra a nivel de especie, y en los casos que no fue posible hasta el menor nivel taxonómico.
- ii. Análisis cuantitativo: las muestras fueron contabilizadas a nivel específico en cámaras de sedimentación, cuyo volumen fue seleccionado según la concentración de la muestra. La cámara más utilizada fue la de 10 ml. Para el recuento celular se aplicó la técnica de [Utermöhl \(1958\)](#), en microscopios invertidos complementados con equipo de contraste de fase.
- iii. Análisis en taxones emergentes. Tanto en las muestras cualitativas como en las cuantitativas se puso especial atención a taxones de los géneros *Karenia*, *Pseudochattonella*, *Azadinium* u otras especies nocivas, no obstante que las primeras sólo podrían ser detectadas en sectores con mayor influencia del océano Pacífico, las segundas, con muchas limitaciones dado que las muestras que se observaron en su mayor parte fueron preservadas (formalina, lugol) y las terceras son de un tamaño reducido, lo cual también dificulta su identidad. No obstante, cuando se dispuso de muestras frescas, éstas fueron revisadas con prontitud para evaluar los taxones presentes e iniciar cultivos. En este contexto estuvieron también, de manera ocasional, las muestras recolectadas por “wellboats”, cuyo análisis se efectuó preferentemente en el laboratorio de Punta Arenas.



Los resultados cualitativos y cuantitativos tanto de las especies nocivas como las que componen el fitoplancton cualitativo o cuantitativo, son entregados con las unidades de medición correspondientes, indicando presencia, escalas de abundancia relativa según lo indicado para cada especie, y en unidades de densidad para resultados cuantitativos (celular litro⁻¹). Estos resultados son entregados por estación y crucero, según corresponda por subprograma.

Cuadro 2. Escalas de abundancia relativa para *Dinophysis acuta*, *Alexandrium catenella*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*. Número de células promedio bajo un cubre-objeto de 18x18 mm en 3 alícuotas de 0,1 ml cada una.

Denominación	escala	<i>D. acuta</i> ⁽¹⁾	<i>A. catenella</i> ⁽²⁾	<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.
Ausente	0	0	0	0
Rara	1	1 – 5	1 - 2	1 – 10
Escasa	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 – 3.410
extremadamente abundante	6	156 - 315	683 – 2.730	3.411 – 13.650
hiper abundante	7	316 - 635	2.731 – 10.922	13.651 – 54.610
ultra abundante	8	636 - 1.275	10.923 – 43.690	54.611 - 218.450
mega abundante	9	1.276 – 2.555	43.691 – 174.762	218.451 – 837.810
>mega abundante	10	2.556 – 5.115	174.763– 699.050	837.811- 3.495.250

(1) Esta escala se aplica también para *A. ostenfeldii* y *D. acuminata*.

(2) Esta escala se aplica también para *Protoceratium reticulatum*

(3) Los niveles de abundancia relativa 8, 9 y 10 son excepcionales

Actividad N°4. Recolectar información hidrográfica y meteorológica en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.

Recolección de datos hidrográficos

En cada sitio de muestreo, también se realizaron mediciones mediante sensores electrónicos (CTDO) de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, fluorescencia (clorofila) y densidad de la columna de agua hasta una profundidad máxima de 50 m o hasta la profundidad que permitió la topografía del lugar. Se utilizaron al menos seis sensores electrónicos (CTDO). Cada equipo es calibrado y sometido a revisión periódica, a lo menos anual, a fin de resguardar la calidad de la información recopilada.

Recolección de información meteorológica

El registro de variables meteorológicas se realizó mediante tres estaciones meteorológicas de registro automático: Tepual (Puerto Montt) a 90 m.s.n.m. en 41°26'20"S y 73°05'38"W, Fiordo Aysén, sector Puerto Chacabuco a 4 m.s.n.m. en 45° 27'54,29" S; 72°49'16,32" W y Puerto Zenteno a 15 m.s.n.m. en 52°47'S y 70°47'W.

Además, en todos los puntos de muestreo, se registraron las condiciones atmosféricas al momento de efectuar el muestreo. Este contempla la medición de temperatura del aire y rapidez del viento mediante termo anemómetro digital, a resguardo de lluvia y radiación solar para efectuar la toma de temperatura, y registrando 5 valores minuto a minuto para calcular un promedio de la rapidez del viento y el uso de un compás de navegación para registrar su dirección; la presión atmosférica se midió mediante un GPS; Nubosidad, mediante la división de la bóveda celeste en octavos. La posición de cada estación está referenciada geográficamente utilizando equipos GPS bajo el Datum WGS84.



Toma de muestras y análisis nutrientes

Para estimar la concentración de nutrientes, se recolectaron muestras de agua en una red de estaciones selectas del área de estudio (nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos) (véase figuras 4.1.3-4.1.5 y anexos 1, 2 y 3).

Las muestras para estimar la concentración de nutrientes en la columna de agua fueron recolectadas de un conjunto selecto de sitios de muestreo de cada región administrativa considerada (en total 99 sitios, Los Lagos 35 sitios, Aysén 33 sitios y Magallanes 31 sitios; véase Anexos 1, 2 y 3). La frecuencia de muestreo es aquella definida para cada subprograma.

En cada sitio de muestreo, se recolectaron dos muestras, estrato superficie – 10 m de profundidad y estrato 10 - 20 m de profundidad. Las muestras fueron recolectadas de la misma forma que la toma de muestras para el fitoplancton cuantitativo (muestreo integrado por estrato mediante manguera). Las muestras son conservadas en envases asépticos de polietileno de alta densidad y congeladas hasta su análisis a -20°C. Los nutrientes considerados fueron nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos. Los análisis se efectuaron en el laboratorio del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) del IFOP, mediante auto-analizador de nutrientes y las técnicas a aplicar corresponden en el caso de los nitritos (EPA, 2000: Method 353.2, Revision 2.0; APHA/AWWA/WEF, 2000: method 4500-NO3--F), nitratos (USEPA, 1993: Method 353.2, Revision 2.0; APHA/AWWA/WEF, 2000: method 4500-NO3--F), fosfatos (USEPA, 1993: Method 365.1, Rev. 2.0; APHA/AWWA/WEF, 1999: method 4500-P-F (1999 forward), y silicatos (USEPA, 1983: Method 370.1; APHA/AWWA/WEF, 2000: method 4500 SiO2- D (2000 forward).

Actividad N°5 (adicional). Recolectar quistes de dinoflagelados en sedimentos superficiales de sitios selectos de las 3 regiones.

Muestreo

Los muestreos de sedimento superficial para la búsqueda de quistes de dinoflagelados en las tres regiones administrativas consideradas en este programa (ver recuadros) se llevaron a cabo casi simultáneamente en diciembre (fines de primavera e inicios de verano). Solo dos muestras de Los Lagos fueron obtenidas en febrero (verano). En la región de Los Lagos se recolectaron muestras de 7 estaciones, en Aysén de 8 estaciones, y en Magallanes de 7 estaciones, dando un total de 22 muestras.

Sitios de muestreo en la región de Los Lagos

Estación	B. Ilque	Pichicolo	E. Yaldad	I. Guaquipilán	B. Asasao	B. Tic Toc	Yelcho
Código	L04N2	L06N3	L18	L24	L22	L25	L19N1
Fecha	13-02-20	13-02-20	10-12-19	07-12-19	07-12-19	07-12-19	10-12-19

Sitios de muestreo en la región de Aysén

Estación	I. Virginia-B. Low	S. Canalad	S. Medio	S. Magdalena	I. Canquenes	I. Vergara	C. Darwin	C. Grande
Código	A01	A18N2	A18N3	A19	A26	A32	A49	A52
Fecha	14-12-19	11-12-19	11-12-19	17-12-19	03-12-19	01-12-19	02-12-19	04-12-19



Sitios de muestreo en la regi3n de Magallanes

Estaci3n	C. Adalberto	P. Ed3n	C. Williams	I. Ballesteros	B. Cordes	B. Bell	P. Eugenia
C3digo	M04	M06	M17	M23	M32	M33	M46
Fecha	11-12-19	11-12-19	09-12-19	12-12-19	19-12-19	20-12-19	30-12-19

Las muestras fueron recolectadas mediante buceo aut3nomo considerando los sedimentos m3s apropiados para la b3squeda de quistes, siendo 3stos, sedimentos finos tipos limo y arcilla. No obstante, otros tipos de sedimento fueron tambi3n considerados (i.e. arenas medias y gruesas) cuando no fue posible obtener los m3s id3neos. Para ello se utiliz3 un frasco cil3ndrico de 3 cm de boca con tapa y contratapa recogiendo el material depositado s3lo en los tres primeros cent3metros de sedimento recolectado en cada sitio. Las muestras no fueron fijadas y los frascos fueron cubiertos con papel aluminio para evitar la entrada de luz, almacenados a baja temperatura (~4°C) para evitar la germinaci3n de los quistes, y enrasados con agua del sector para evitar la entrada de aire.

Procesamiento de muestras

Se bas3 en el m3todo biol3gico de limpieza y concentraci3n de quistes descrito por [Matsuoka y Fukuyo \(2000\)](#). Este m3todo consiste en mezclar una cantidad conocida de sedimento con agua de mar filtrada, para luego aplicar ultrasonido con la finalidad de disgregar todas las part3culas, entre ellas los quistes. Luego, la muestra es tamizada a trav3s de mallas de 100 μm y 20 μm , y la fracci3n retenida en el tamiz de 20 μm se recoge con agua de mar filtrada y es llevada a un contenedor de vidrio graduado anotando su volumen final. De este volumen una al3cuota es analizada en una c3mara Sedgwick Rafter de 1 mL bajo aumentos de 100x y 400x utilizando un microscopio de luz equipado con contraste de fases y c3mara fotogr3fica. Los resultados de los an3lisis son reportados como abundancia de quistes (quistes $\times \text{mL}^{-1}$ de sedimento h3medo (sh)) de dinoflagelados, dando particular 3nfasis a las especies nocivas.

Identificaci3n y cuantificaci3n de quistes

La identificaci3n taxon3mica de los quistes ha sido realizada de acuerdo a las caracter3sticas morfol3gicas, tales como, forma, tama3o, color, tipo de pared, ornamentaciones y arqueopilo (estructura por donde emerge la c3lula germinada) usando material de referencia recolectado en las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes, adem3s de publicaciones [especializadas](#) (e.g. [Mertens et al., 2012, 2019](#); [Zonneveld & Pospelova, 2015](#); [Liu et al., 2015](#); [Mudie et al., 2017](#)). Especial atenci3n se tuvo con los quistes del g3nero *Alexandrium*, particularmente con las especies *A. catenella* y *A. ostenfeldii*.

4.2. Metodolog3a Objetivo Espec3fico 2

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



Modelación

Esta actividad está ligada al modelo biológico *A. catenella* implementado en los canales Puyuhuapi y Jacaf, incluyendo el modelo de dispersión de partículas, que ha sido utilizado como herramienta para el pronóstico de conectividad de zonas con altos valores de abundancia relativa de *A. catenella*.

Modelación hidrodinámica

Para resolver la circulación de las modelaciones se utilizó el modelo hidrodinámico MIKE 3D FM. Este es un sistema de modelamiento en 3 dimensiones que 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, por lo que el modelo resuelve las ecuaciones de conservación de masa y momentum, transporte de calor y de sal a través del método de volúmenes finitos centrados en cada celda de la estructura de discretización (DHI, 2017).

La estructura de discretización es una malla irregular con elementos triangulares los que permiten un buen ajuste al borde costero. En la figura se muestra la grilla y discretización horizontal utilizadas para el modelo de Puyuhuapi-Jacaf y regional (Figura 4.2.1).

En este informe se mostrarán resultados basados en dos modelos hidrodinámicos distintos; por una parte, está el modelo de Puyuhuapi-Jacaf, que tiene una configuración del tipo hindcast, es decir es capaz de reproducir periodos pasados y, por otro lado, los resultados del modelo regional, el cual tiene una configuración tipo pronóstico, es decir este modelo es capaz de reproducir condiciones futuras.

El modelo Puyuhuapi-Jacaf fue construido a partir de información batimétrica de las cartas náuticas del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA). Las condiciones de borde para el nivel del mar se obtuvieron de la predicción de marea realizada a partir de análisis armónicos de mareas (Pawlowicz et al., 2002) utilizando datos de mediciones de 30 días del nivel del mar instalados por IFOP. Para condiciones de borde de temperatura y salinidad fueron utilizadas observaciones provenientes de perfiles de CTD realizados por el programa CIMAR-Fiordos y mediciones realizadas por IFOP.

El modelo regional fue construido a partir de datos batimétricos del SHOA y la Carta Batimétrica General de los Océano (GEBCO sigla en inglés). Como condiciones de borde se utilizaron datos del nivel del mar pronosticado proveniente del modelo de predicción de marea de MIKE3, el cual utiliza datos de altimetría satelital medidos los últimos 17 años por los satélites TOPEX/POSEIDON, Jason-1 y Jason-2. Para forzar el modelo se utilizaron datos de viento pronosticado para 10 días obtenido del modelo atmosférico sistema de pronóstico global (sigla en inglés GFS) con resolución de 0.5 grados.

Modelo biológico

El modelo biológico de *A. catenella* es un modelo acoplado que se implementó en los canales de Puyuhuapi y Jacaf, es por ello que utilizó la configuración hindcast.



Este modelo contiene principalmente las parametrizaciones de crecimiento y mortalidad. Este modelo supone que no existen limitaciones de nutrientes y que los procesos de enquistamiento y excistamiento 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

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

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 ($d^{-1}\ W^{-1}\ m^{-2}$).

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 m3xima de crecimiento bajo condiciones 3ptimas de temperatura y salinidad. Las funciones $f(T)$ y $f(S)$ son ajustes polinomiales c3bicos normalizados para que sus resultados var3en entre 0 y 1. Las ecuaciones de temperatura y salinidad utilizadas fueron obtenidas del desplazamiento de la ecuaci3n de [Watraset al. \(1982\)](#) para que coincidieran los m3ximos con los datos observados en Puyuhuapi.

Modelaci3n dispersi3n de part3culas pasivas

Este modelo es un modelo acoplado a la hidrodin3mica, donde en este caso se utiliz3 el modelo regional, por ende, tuvo una configuraci3n de pron3stico.

El modelo de dispersi3n de part3culas reproduce la posici3n de una part3cula en un tiempo determinado, es por ello que se denomina langrangiano.

El marco matem3tico del modelo sigue la metodolog3a est3ndar para advecci3n y difusi3n de part3culas, donde una part3cula P , en el tiempo, T y en la posici3n, $X_p^t = X_{p(x,y,z)}^t$

Se calcula:

$$\frac{\partial X_p}{\partial t} = \left[\vec{u}_p + w_p \right] + V_H + V_Z$$

Donde $\vec{u}_p$ es el vector de velocidad del modelo 3D para la part3cula en la posici3n. La advecci3n de la part3cula es tratada usando el algoritmo de Runge-Kutta de 4 orden. La difusi3n turbulenta horizontal y vertical es representada en el modelo por el 'random walk'.



Como fuentes de dispersión de las partículas se utilizaron tres estaciones del programa de marea roja (Tabla 2.1) que presentaron valores sobre 4 de abundancia relativa en el muestreo de noviembre del 2018. Las partículas dispersadas corresponden a un flujo constante de partículas lanzadas a 5m de profundidad; estas no sedimentan, ni decaen.

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

Para el registro de datos oceanográficos se instalaron dos anclajes; uno en la boca del fiordo Puyuhuapi que registró desde el 2 de noviembre del 2018 al 6 de marzo del 2019 y el segundo, ubicado en la boca del fiordo Jacaf que registró desde el 2 de noviembre del 2018 al 10 de febrero del 2020.

La ubicación de los anclajes y profundidad de los sensores se indica en la Figura 4.2.2.

En los anclajes se instalaron sensores HOBO U20, HOBO U24, Star Oddi, MiniDOT y Cyclop. Los que registraron temperatura, presión, conductividad y fluorescencia, la frecuencia de medición fue de 30 minutos, sin embargo, los datos fueron promediados cada una hora y posteriormente se filtraron con un pasa-bajo, coseno Lanczos con un periodo de corte de 40 horas.

Por otra parte, en estas mismas ubicaciones 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 el 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 solución de Lugol al 1% previo análisis en laboratorio.

En cuanto al análisis de nutrientes (nitrato, nitrito, silicato y fosfato) se obtuvo una submuestra de 500 mL, la cual fue almacenada en botellas asépticas de polietileno de alta densidad y posteriormente congeladas a -20°C previo su análisis por espectrofotometría.

Ajustes del modelo conceptual físico-biológico, incorporando las tasas de máximo crecimiento de *Alexandriumcatenella* a distintos rangos de temperatura, salinidad, nutrientes y luz, además de estimar las tasas de pérdidas o remoción celular desde la columna de agua.

A partir de los datos obtenidos desde los distintos bioensayos con distintas cepas de *A. catenella* para conocer las tasas de crecimiento en distintas condiciones de temperatura, salinidad, luz y nutrientes, así como, desde la recopilación de los datos de las distintas campañas oceanográficas, se propone hacer una revisión de los datos generados por el proyecto de manera que se ajuste el modelo conceptual a las condiciones ambientales de nuestra área de estudio. En las etapas anteriores de este proyecto se ha recopilado la información que se requiere para la construcción de este modelo físico y biológico para estimar la distribución y abundancia del dinoflagelado tóxico *A. catenella* en fiordos y canales del sur de Chile. La construcción de este modelo físico-biológico está basada en un modelo conceptual que muestra de manera esquemática las interacciones existentes entre *A. catenella* y los distintos procesos biológicos, físicos y las estrategias biológicas que interactúan con estos procesos físico-biológicos. El



modelo conceptual planteado permite comprender la dinámica del crecimiento y la distribución de *A. catenella* a través de la estimación de los cambios en la densidad celular por medio del balance de las ganancias (crecimiento y acumulación) y pérdidas (pastoreo, muerte celular, sedimentación, parasitismo y dispersión) todo dentro del contexto de la variabilidad del entorno físico.

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

Durante esta etapa se propone evaluar nuevos sitios para la modelación, priorizando a través 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 aparición y nivel de concentración tanto de *A. catenella* como de toxina paralizante en los mariscos; niveles de abundancia relativa de *A. catenella*; disponibilidad de nutrientes; el conocimiento de quistes de resistencia en los sedimentos de los sitios a evaluar. Además, se deben considerar las posibles facilidades/problemas logísticos que conlleva el realizar los experimentos de modelación en cada uno de los sitios a evaluar.

Como forma de dar respuesta a esta actividad, se evaluaron los valores de abundancia relativa de *A. catenella* durante los periodos de floración correspondientes a los años 2016 y 2018 en la red de estaciones del programa de monitoreo de las mareas rojas de las regiones de los Lagos y Aysén.

4.3. Metodología Objetivo Específico 3

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.

Aspectos generales

Si bien durante las primeras tres etapas se realizó un análisis de los datos e información abordado como etapas anuales, luego ello fue discontinuado por decisión de la contraparte técnica. Y recién a partir de la VIII etapa en 2014 se reinició el análisis e interpretación de los antecedentes disponibles entre mayo de 2006 y febrero de 2014, lo cual se ha continuado en etapas sucesivas, correspondiendo en esta oportunidad considerar hasta febrero de 2019. La mayor parte de estos análisis han considerado el promedio mensual de cada variable por sitios de muestreo, pero ello hace perder la varianza de cada variable. Por esta razón en esta oportunidad la información se considerada de manera puntual para cada uno de los meses en que se dispone de información para la serie de tiempo.

Durante esta etapa XIII están comprometidas la continuación del análisis rutinario e incorporación de la representación gráfica; la búsqueda de índices como alerta temprana y la exploración de las relaciones entre taxones de los géneros *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*. A continuación, se muestra la metodología aplicada en cada caso.



De las 228 localidades que constituyen el conjunto de sitios de muestreo de este programa, para los análisis se consideraron 146 sitios. Estos tienen una buena representaci3n geogr3fica abarcando toda el área de estudio y presentan informaci3n a lo largo de todo el período de muestreo en que se ha desarrollado el programa, desde mayo 2006 hasta febrero de 2019. No obstante, la serie definitiva abarca entre octubre de 2007 y febrero 2019 (137 meses), dado que entre la primera y segunda etapas de este programa hubo un lapso de 6 meses sin informaci3n, lo cual impidi3 contar con una serie mensual continúa, ya que entre mayo de 2006 y febrero de 2007 no hubo programa. Se excluyeron todos los sitios de muestreo ocasionales o que fueron monitoreados sólo en un lapso del estudio u otros que han sido incorporados posteriormente de forma permanente, pero que tienen una serie de tiempo menos extensa.

Las variables consideradas para estos análisis fueron la abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, densidad del fitoplancton total, densidad total de diatomeas, densidad total de dinoflagelados, temperatura a 5 m de profundidad y salinidad a 5 m de profundidad. Cabe indicar también que para 2011 no se dispone de la densidad del fitoplancton total, de diatomeas y de dinoflagelados, dado que esas variables no fueron registradas en ese período, sólo los taxones nocivos, aunque todas las otras variables fueron consideradas. Por tanto para cada variable considerada se dispone de una matriz de 146 sitios de muestreo por 137 meses (146x137), con la excepci3n indicada.

Los datos puntuales faltantes, fueron interpolados aplicando el promedio de los valores de la serie temporal, el anterior y el posterior al valor faltante. Ello permiti3 disponer una matriz con todas sus intersecciones con valores,

Actividad 1. Continuaci3n del análisis rutinario e incorporaci3n de la representaci3n gr3fica

Considerando las series de tiempo definidas en los párrafos previos, las variables consideradas por período mensual fueron la densidad total del fitoplancton, la densidad total de diatomeas y la densidad total de dinoflagelados, como también las abundancias relativas de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*. Las series de tiempo fueron aquellas definidas previamente según períodos mensuales entre octubre de 2007 y febrero de 2019. Geográficamente se consider3 la segregaci3n de cada regi3n administrativa en los tres sectores en que han sido divididas las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Por tanto se presentan resultados para el fitoplancton total y los dos grupos de microalgas más importantes del fitoplancton estudiado, y resultados para los cinco taxones, y en ambos según las abundancias espacio temporales apreciadas en las series de tiempo analizadas.

Para la ordenaci3n y clasificaci3n de los sitios de muestreo para cada variable considerada, se aplicaron análisis de conglomerados ("cluster analysis") usando como medida de distancia el índice de similitud de Bray y Curtis, reduciendo la matriz mediante el método del grupo promedio no ponderado y representando los resultados en un dendrograma y/o en un gráfico resultante de un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS),.



Los análisis se realizaron con PRIMER (“Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research”). Los conglomerados representados en los dendrogramas significativamente diferentes, fueron identificados mediante un análisis SIMPROF (“SIMilarity PROFile” o perfiles de similaridad) (cf. [Clarke & Gorley 2006](#), [Clarke et al. 2008](#)), el cual calcula rangos de los “perfiles de similaridad” entre muestras y determina la significancia estadística de cada conglomerado individual del dendrograma usando técnicas de permutaciones. Las variables fueron transformadas a raíz cuadrada y normalizados, pero los resultados no fueron diferentes si eran transformados a log (x+1) y normalizados. El nivel de significancia empleado fue del 1%. En los dendrogramas la significancia en la conformación y la unión de los conglomerados se muestra usando una coloración distinta, esto es, rojo para grupos homogéneos y negro para grupos significativamente distintos. El análisis SIMPER permitió conocer el aporte porcentual con que contribuyen los constituyentes de cada conglomerado definido.

El nMDS representa relaciones entre múltiples variables y se puede representar en 2 o más dimensiones, en una razón o proporción entre la realidad y la representación. Está especialmente diseñado para representar gráficamente relaciones entre objetos en un espacio multidimensional. La interpretación de estos gráficos depende de cuán buena es la representación de las similitudes reales; es decir el valor de stress indica la bondad de ajuste de ésta ([Holland, 2008](#)), que no es más que la fidelidad de la representación espacial (en tres dimensiones), en un gráfico de dos dimensiones. Así, valores cercanos a cero son los que indican una mejor representación de los datos en dos dimensiones, a partir de la configuración tridimensional. [Bates \(2008\)](#) entrega la siguiente clasificación: 0.0 = ajuste ideal; 0.1 = buen ajuste; 0.2 = ajuste aceptable; 0.3 y más = mal ajuste.

En síntesis, para analizar el ordenamiento y clasificación espacio – temporal de las variables consideradas, se aplicaron cuatro criterios de tratamiento de la información: análisis de los dendrogramas (CONGLOMERADOS) y obtención de conglomerados significativos en un 1% a partir del método SIMPROF. También se aplicó el análisis de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS), para representar en una gráfica distinta, los grupos obtenidos con el análisis de conglomerados utilizando la técnica de discriminación de conglomerados. El nMDS permite visualizar patrones de ordenación mediante un índice de distancia o similitud (en este caso el índice de similitud de Bray-Curtis) Los resultados del análisis SIMPER permitieron conocer las zonas donde se encuentran las mayores abundancias en cada conglomerado definido. Se describieron aquellos grupos que contuvieron el mayor número de estaciones, y de esta manera representar un alto porcentaje de las estaciones de cada región.

Actividad 2. Exploración de las relaciones entre taxones de los géneros *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

Los taxones considerados para explorar estas relaciones fueron *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*. Las series de tiempo fueron aquellas definidas previamente según períodos mensuales entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

La abundancia relativa para cada taxón fue sumada, en términos que se dispuso para cada mes, una sumatoria total de la abundancia relativa estimada para el conjunto de 146 sitios de muestreo. Y también



se estimó la sumatoria de la abundancia relativa para cada sitio de muestreo para los 137 meses de la serie de tiempo.

La serie temporal en algunos análisis fue modificada de datos mensuales a datos por estaciones del año. Las estaciones del año estuvieron representadas por los meses de enero-febrero-marzo (VERANO); abril-mayo-junio (OTOÑO), julio-agosto-septiembre (INVIERNO) y octubre-noviembre - diciembre (PRIMAVERA).

Los análisis considerados para evaluar las relaciones entre los taxones consideraron la aplicación del índice de correlaciones de Pearson entre las abundancias relativas de los taxones para todos los pares de relaciones posibles tanto entre sitios de muestreo como entre periodos de muestreo (en este caso considerados como estaciones del año) para los cinco taxones considerados. Cuando se trató de la aplicación de un análisis de conglomerados, la variable considerada fue la abundancia relativa por período mensual de los taxones de dinoflagelados nocivos indicados. Los criterios aplicados en el análisis de conglomerados, representación gráfica, segregación de los grupos definidos e importancia de los sitios o periodos de muestreo según los grupos definidos, fueron aquellos indicados previamente para la actividad 1. Finalmente usando la topología de la representación en gráficos nMDS según los resultados del análisis de conglomerados, permitieron representar la ordenación espacial o temporal de las abundancias relativas de los taxones de forma individual, y para aquellos casos en que las correlaciones entre las abundancias relativas de los taxones considerados fueron significativas, con la finalidad de apreciar las áreas geográficas o los períodos del año, en que las abundancias tuvieron una mayor importancia cuantitativa, como también entre taxones..

Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

A partir de la base de datos de abundancia celular (cél L⁻¹) y abundancia relativa (AR) obtenidos entre el 2013 y 2018, en el marco de los Subprogramas de Vigilancia-Fiscalización y Raúl Marín Balmaceda, se realizaron análisis para evaluar la variación temporal y espacial de los principales taxones nocivos: *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*.

Por un lado, se utilizó un modelo lineal generalizado y un modelo de distribución de residuales binomial para evaluar el efecto de: la profundidad (niveles: profundidad 0 – 10 metros y profundidad 10 – 20 metros); la zona (niveles: sur de Chiloé, Melinka y Raúl Marín Balmaceda); años (niveles: 2013 – 2018) y meses (niveles: enero-febrero); sobre la variación de detectar la presencia de cada especie. Estos análisis fueron realizados independientemente para cada especie, y la base de datos de abundancia celular fue convertida a una variable binomial. Se utilizó un ANOVA Tipo I para evaluar la significancia de los factores, y un ANOVA Tipo II para ver la proporción de la devianza residual (varianza) explicada por cada factor. Cuando se encontraron diferencias se realizó un test a posteriori Tukey HSD. Además, se graficaron las abundancias transformadas ($\ln(\text{abundancia}+1)$) de los taxones por quincenas y por mes, y por profundidad.

Por otro lado, se utilizó un modelo lineal generalizado y un modelo de distribución de residuales multinomial para estimar la probabilidad media de estar en los niveles de AR, tanto por quincena y mes,



como por estaci3n (Melinka incluy3 las estaciones: A02, A04, A05, A34, A11N1, A04N1. RMB incluy3 las estaciones: A06, A07, A08, A08N1, A08N2, A08N3. Chilo3 sur incluy3 las estaciones: L19N4, L19N3, L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L23, L22, L24). Las estimaciones de las probabilidades fueron hechas por separado para cada especie y luego graficadas.

Actividad 4. An3lisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo en la capa superficial (0-10 mts) y capa subsuperficial (10-20 mts).

Se realiza un primer an3lisis exploratorio de los datos obtenidos en las etapas XI (2017-18) y etapa XII (2018-19) relativos al fitoplancton cuantitativo para los dos estratos (capa superficial 0-10 mts y capa subsuperficial 10-20 mts) considerados en el monitoreo para las tres regiones administrativas.

Este primer an3lisis pretende ver si existen diferencias entre ambos estratos, tanto para la abundancia total de fitoplancton, como para la abundancia por especies y composici3n del ensamble fitoplanct3nico, present3ndose una visi3n general y primeras interpretaciones del comportamiento de los ensambles fitoplanct3nicos generados a partir de los promedios anuales de densidad (cel L⁻¹) de un total de 301 especies que incluyen los grupos de diatomeas y dinoflagelados distribuidos en un total de 199 estaciones de monitoreos abarcando las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes.

Para una mejor compresi3n y debido a la baja densidad celular que presentan los dinoflagelados con respecto a las diatomeas (lo que hace que su porcentaje de contribuci3n al total del ensamble fitoplanct3nico sea muy bajo), se analizan los datos de ambos grupos en forma separada. Para ambos casos los datos fueron normalizados logar3tmicamente para evitar interferencia en los an3lisis debido a cambios bruscos en la abundancia de algunas especies. Los an3lisis estad3sticos se realizaron en el programa STATISTICA 10.0 e incluyeron correlaciones simples (Spearman r) para ver la relaci3n entre los dos estratos tomando en cuenta la suma de los promedios totales, tanto de diatomeas como de dinoflagelados, para cada estaci3n de monitoreo. Por otro lado, para ver diferencias y variaci3n en las abundancias por especies y entre especies que componen el ensamble fitoplanct3nico, se utiliz3 el programa SYSTAT realizando para cada variable (estratos) y para cada grupo de especies un test ANOVA y un test Tukey para ver diferencias entre ambas capas. Adem3s, se aplicaron 3ndices de dominancia de Simpson (D') e 3ndice de diversidad de Shannon (H') para ver diferencias entre las especies para los dos estratos.

Actividad 5. Variabilidad espacio temporal de la temperatura y salinidad.

Para el an3lisis de las series de tiempo de las variables salinidad y temperatura de las regiones administrativas estudiadas en este Programa, se realizaron gr3ficas utilizando datos de media mensual (a 5 m) debido a que, al extenderse la serie de tiempo, es posible ajustar los resultados de las etapas previas tanto de la medida de tendencia central como respectivo de su variabilidad. Este criterio permiti3 identificar o ratificar tendencias, caracter3sticas y patrones de la distribuci3n espacial y temporal de las variables. Cada regi3n se presenta dividida en 3reas norte, centro y sur, excepto la regi3n de Ays3n, que est3 dividida en 3reas norte y sur y Tortel, siendo esta 3ltima localidad la que se encuentra latitudinalmente m3s al sur de dicha regi3n.



Actividad 6. Variabilidad interanual (10 años) de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum* en un fiordo del sur de Chile basado en un análisis de nicho realizado.

Área de estudio y conjunto de datos

El fiordo de Reloncaví ($\sim 41.6^\circ \text{S}$), ubicado en la región de Los Lagos, es un lugar de alta producción acuícola en Chile (Fig. 4.3.1). El fiordo tiene 60 km de largo, una superficie de 170 km², una profundidad máxima de 460 m, constituyendo un modelo representativo para otros fiordos de la región. El fiordo tiene un flujo promedio anual de 650 m³ s⁻¹ y un régimen pluvio-nival. Su circulación está regulada principalmente por la entrada de agua dulce del río Puelo, que drena una cuenca transandina y desemboca en el medio del fiordo de Reloncaví y alcanza su flujo máximo en invierno (lluvia) y primavera (deshielo) (León-Muñoz et al., 2013). El flujo del río Puelo se correlaciona significativamente con el flujo de otros ríos que drenan en el medio y la cabeza del fiordo de Reloncaví, así como con los otros ríos tributarios principales de los sistemas costeros en la Patagonia occidental (Lara et al., 2008).

Se colectaron muestras integradas de fitoplancton utilizando manguera (0-10 m) y se fijaron inmediatamente con lugol al 1%. Las algas potencialmente tóxicas se observaron utilizando un microscopio invertido (Olympus CKX41) y se cuantificaron mediante cámaras de sedimentación (20 mL) a 400X, según Utermöhl (Utermöhl, 1958). Los perfiles de temperatura del agua ($^\circ\text{C}$), salinidad (PSU) y densidad (σ_t) se obtuvieron utilizando un perfilador electrónico Seabird 19 CTD. La frecuencia de flotabilidad Brunt – Väisälä (N_{BV} , s⁻¹) se estimó en función de los cambios de densidad del agua a lo largo de la profundidad (Jennings et al., 2012). El N_{BV} se estimó para cada intervalo de 1 m y se usó el valor más alto como representante de la estratificación de la columna de agua. Valores acumulados mensualmente para datos de flujo y precipitación para las estaciones hidrológicas Carrera Basilio ($41^\circ 36' 16'' \text{S}$, $72^\circ 12' 23'' \text{W}$) y Puelo ($41^\circ 39' 4'' \text{S}$, $72^\circ 18' 42'' \text{W}$) fueron obtenidos del Climate Explorer (Climate Explorer). Los valores mensuales para el índice Niño 3.4 y el índice Marshall Southern Annular Mode (SAM) se obtuvieron de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de EE. UU. (NOAA) (89). En el caso de los nutrientes, se realizó un análisis complementario utilizando un conjunto de datos adicional obtenido de muestras recogidas cada 2 a 3 semanas desde octubre de 2008 y marzo de 2009 de la estación de muestreo 8 (Alves-de-Souza et al., 2014). Los datos de CTD (Sea Bird 19-plus) se utilizaron para obtener perfiles verticales en tiempo real de salinidad, temperatura y fluorescencia. Guiados por la lectura del perfil, se seleccionaron cinco profundidades: subsuperficial (1), arriba (2) y debajo (3) la pycnoclina, el máximo de fluorescencia (4) y 16 m (5). Además de las variables mencionadas anteriormente, este conjunto de datos incluye la concentración de NO_3^- , PO_4^{3-} y $\text{Si}(\text{OH})_4$, transparencia del agua (disco Secchi), así como las densidades celulares del ciliado *M. cf. rubrum*.

Análisis estadístico

Antes del análisis, se inspeccionaron los datos de 10 años ($n = 1170$) para excluir las fechas de muestreo para las que no se disponía de mediciones abióticas. Las densidades celulares se transformaron previamente ($\ln(x + 1)$) para reducir el efecto de las especies dominantes, mientras que las variables ambientales se estandarizaron a valores entre 0 y 1, en función de los valores mínimos y máximos de cada variable (Alves-de-Souza et al., 2017). Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software R (R Core Team, 2013) utilizando paquetes gratuitos disponibles en el repositorio CRAN (CRAN).



Análisis de nicho

Los datos se organizaron en una matriz que contenía las densidades de celulares de *Dinophysis* y *P. reticulatum* y una segunda matriz que contenía las variables ambientales (es decir, temperatura del agua subsuperficial, salinidad subsuperficial, frecuencia Brunt-Väisälä, índice Niño 3.4 e índice SAM). El análisis OMI "Outlying Mean Index" (Dolédec et al., 2000) se realizó utilizando la función nicho en el paquete "ade4" (Dray & Dufour, 2007). El razonamiento detrás del análisis OMI fue descrito en detalle por Dolédec et al. (2000). Brevemente, primero se realizó un PCA utilizando la matriz ambiental para determinar la posición de las unidades de muestreo (UM) en el espacio multivariado, con el origen de los ejes de PCA correspondientes al centro de gravedad (G) de los UM (es decir, representa el hábitat medio promedio del dominio de muestreo). Con base en la distribución de las especies en las diferentes UM, se calculó un centro de gravedad para cada especie considerando solo las muestras donde se produjo la especie. Este centro de gravedad representa la condición media del hábitat utilizada por la especie. Los OMI para las diferentes especies se estimaron luego por la distancia euclidiana entre el centro de gravedad de la especie y G. La inercia total es proporcional a la marginalidad promedio de las especies y representa una cuantificación de la influencia de las variables ambientales en la separación del nicho de las especies (Dolédec et al., 2000). La significación estadística de las marginalidades calculadas (es decir, OMI) se probó utilizando permutaciones de Monte Carlo incluidas en los paquetes 'ade4' (10,000 permutaciones).

Relevancia de las variables ambientales

La correlación entre las variables se verificó mediante análisis de Pearson. La función *envfit* del paquete "vegan" (Oksanen et al., 2007) se utilizó para ajustar las variables ambientales a las puntuaciones OMI. Para visualizar la frecuencia de ocurrencia (basada en la presencia / ausencia) de *D. acuminata* y *P. reticulatum* en relación con las diferentes variables ambientales, se obtuvieron gráficos de estimación de densidad de Kernel (KDE) utilizando la función *geom-densidad* del paquete 'ggplot2' (Wickham, 2010). Finalmente, se accedió a la importancia relativa de las diferentes variables ambientales para las floraciones de *D. acuminata* y *P. reticulatum* mediante el análisis de árbol de inferencia condicional utilizando la función *ctree* en el paquete 'party' (Hothorn et al., 2015). Para eso, la densidad de las dos especies se convirtió en una variable categórica con dos niveles: "floración" y "no floración". Los niveles de floración se establecieron como superiores a 1000 y 10.000 células L⁻¹ para *D. acuminata* (Reguera et al., 2012) y *P. reticulatum* (Álvarez et al., 2011), respectivamente. Aunque los análisis de árbol de inferencia condicional para ambas especies consideraron todas las variables ambientales (es decir, temperatura del agua, salinidad, frecuencia Brunt-Väisälä, índice Niño 3.4 e índice SAM), solo las variables significativas (p<0.05) asociadas con las floraciones se representaron en los árboles.

4.4. Metodología Objetivo Específico 4

Difundir periódicamente la información generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.

Sistema de distribución de la información.



Se ha continuado la aplicación de la modificación incorporada en la etapa previa, en lo que se refiere a la difusión de los estimadores de abundancia relativa de los taxones nocivos, sin perjuicio de la inclusión de otras variables que son registradas en el programa. El trabajo ha estado orientado hacia dos públicos objetivo, el representado por la institucionalidad, la autoridad de Salud y Pesca-Acuicultura, entre los que se incluyen también los especialistas y profesionales con entrenamiento superior interesados en floraciones de algas nocivas y toxinas marinas, y el Público en general, en el cual es pertinente distinguir varios grupos objetivos de interés, como pescadores artesanales, acuicultores de pequeña escala, y estudiantes en general.

Respecto de ambos, interesa que la información sobre abundancia relativa de diferentes taxones nocivos, sea de conocimiento y comprensión rápida y simple. Para los primeros se mejoró la representación gráfica de los estimadores, tanto para dimensionar los cambios temporales, como para apreciar de una mejor forma la distribución espacial. Por lo mismo el SIG que está actualmente habilitado, fue modificado para lograr un acceso simple y disponer estos antecedentes en forma periódica. Y para el público en general, se ha incorporado la información a Twitter, Facebook e Instagram, de una manera resumida a fin que la comunidad pueda conocer la distribución de las microalgas nocivas. Está también la aplicación móvil i-FAN, aunque la información se entrega en formato semáforo en que los estimadores de abundancia relativa han sido calificados previamente, en una escala de colores blanco (ausente), verde, amarillo, naranja y rojo.

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 el mensaje cuando está dirigido a personas no entrenadas pero que requieren antecedentes de lo que ocurre en su entorno.

Acciones de difusión, capacitación y educación

Conversatorios y actividades colaborativas

Durante el segundo semestre 2019, se realizaron tres actividades (Conversando sobre Mareas Rojas), en las cuales se trabajó con niños de enseñanza básica y media. El trabajo realizado consistió en una “Dinámica de Grupo”, en la cual un “Facilitador” orienta al grupo para compartir experiencias y se construya, a partir de una actividad colaborativa, una apreciación conceptual acerca de las floraciones de algas nocivas y sus efectos. La complejidad de esta construcción está determinada por las experiencias previas de los disintos integrantes de cada grupo. En la dinámica se conversó sobre aspectos tales como Concepto de FAN, Microalgas y Transvectores. La actividad habitualmente se inicia a través de un “Torbellino de Ideas”, dónde cada asistente indica en sólo una palabra que es lo que primero se le viene a la mente cuando escucha los vocabos Marea Roja o FAN; a partir de esta información, y a través de una discusión socializada. (interacción dinámica), el grupo de manera gradual propone por ejemplo la definición de una FAN, y luego se contrasta esa definición con aquella que proponen los expertos en el tema. Todos los aspectos considerados, se abordan usando una dinámica similar. Habitualmente previo y después de realizado el taller, se realiza una evaluación para conocer el grado de conocimiento de los grupos y los cambios provocados por la intervención. La evaluación es



sólo una herramienta para conocer el grado de conocimiento sobre las FAN, y disponer de una apreciación de los cambios logrados con la dinámica realizada.

Evaluación de entrada y salida.

Previo a iniciar los talleres, se realizó una evaluación de entrada, para conocer el grado de conocimiento y experiencia de cada grupo sobre las Floraciones de Algas Nocivas (FAN). Antes de la evaluación se explicó la intención de la actividad y la importancia del trabajo grupal. El instrumento de evaluación es un cuestionario con 12 proposiciones. Se entregaron orientaciones, para corregir el sesgo por el uso de los términos técnicos y la falta de experiencia para responder el instrumento utilizado. Las respuestas solamente incluyen opciones SI o NO. Considera cuatro aspectos: a) Generalidades (concepto, organismo, transvectores, impacto y acciones operacionales), b) Toxina Paralizante y otras toxinas presentes en la región (toxinas, síntomas, medios de detección y organismos encargados de efectuar análisis) c) Actitudes d) Experiencia con el tema. Los dos primeros temas estuvieron orientados a conocer el nivel de conocimiento. Luego de finalizado el taller se aplica nuevamente la misma evaluación para evaluar los cambios logrados.

4.5. Metodología Objetivo Específico 5

Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva *Karenia selliformis* y de la aplicación de la técnica molecular de “metabarcoding” para el monitoreo de microalgas nocivas.

Actividad 1. Microalga nociva del género *Karenia*

Condiciones de cultivo de microalgas

En 2018 se aislaron dos cultivos monoclonales de *Karenia selliformis* del sur de la isla de Chiloé, región de Los Lagos (CREAN_KS01) y del archipiélago de Guaitecas en la región de Aysén (CREAN_KS02) y se mantuvieron en cultivo en la colección de algas CREAN-IFOP. Los cultivos no axénicos se mantuvieron en medio L1 (Guillard y Ryther, 1962) en agua de mar filtrada estéril (0.22 μm) (35 psu) a 15 °C, a 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (lámparas de fluorescencia blancas y frías) y bajo un régimen de luz:oscuridad de 12:12 h.

Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

Las células de cultivos monoclonales de las cepas CREAN_KS01 y CREAN_KS02 (número de acceso GenBank MN203220 y MN203221, respectivamente) se sedimentaron mediante centrifugación a 1500 g durante 10 minutos a 4 °C, el sobrenadante se descartó y los sedimentos celulares se incubaron a 65 °C durante 1 hora en 1 ml de tampón CTAB y 10 μL de proteinasa K (10 mg / ml). La región LSU (D1-D2) del gen de ADNr se amplificó usando los cebadores D1R y D2C (Edwardsen et al., 2003; Scholin et al., 1994) en un SimpliAmp Thermo-Cycler (Applied Biosystems). El protocolo de PCR fue el siguiente: paso de desnaturalización inicial de 95 °C durante 1 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C durante 30 s, 56 °C durante 30 s, 72 °C durante 30 s, seguido de una extensión de 7 minutos a 72 °C. Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 1,5% y el producto se purificó usando el kit de purificación de banda de gel y ADN Illustra GFX PCR (GE Healthcare), y se secuenciaron en ambas



direcciones en MacroGen Korea. Las secuencias de ADNr LSU se alinearon junto con las secuencias disponibles en GenBank usando ClustalW (Larkin et al., 2007), implementado en Geneious Prime 2019.0.3 (www.geneious.com). Las regiones inalienables fueron excluidas de la alineación LSU. jModeltest (Posada, 2008) se utilizó para identificar modelos apropiados de evolución de secuencia (LSU: GTR + I), y los análisis de máxima verosimilitud se realizaron utilizando PhyML (Guindon et al., 2010). Los valores de soporte se estimaron mediante la Prueba de relación de probabilidad (aLRT, Anisimova & Gascuel, 2006) y el análisis de arranque (1000 repeticiones). Los análisis bayesianos se realizaron con MrBayes V3.1.2 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003) usando el modelo apropiado (GTR + I).

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se fijaron 5 mL de *K. selliformis* cepa KS02 agregando un volumen igual de solución de OsO₄ al 4% preparada a la misma salinidad de la muestra. Las células fijadas se concentraron mediante centrifugación suave y luego se enjuagaron en medio de cultivo seguido de agua desionizada. La deshidratación se realizó utilizando una batería de metanol graduado (10%, 30%, 50%, 70%, 90%, 95%, seguido de dos etapas de metanol seco al 100%), después de lo cual las células se secaron en un punto crítico con dióxido de carbono líquido y recubierto con platino. Las muestras se analizaron usando un microscopio electrónico de barrido analítico de emisión de campo Hitachi SU-70.

Análisis de pigmentos por HPLC

Para el análisis de pigmento, se filtraron 100 mL de cultivos de *K. selliformis* (cepa CREAM_KS02) en fase de crecimiento exponencial en filtros de membrana Durapore® de 13 mm de diámetro (5,0 µm SVPP) (Merck Millipore Ltd., Irlanda). Las células recolectadas en estos filtros se extrajeron posteriormente en 1 mL de acetona (100% - concentración final 90%) después de la sonicación de la sonda (60 s) y remojo durante 24 h a -20 ° C como describen Chang et al. (2003). Los pigmentos fotosintéticos se cuantificaron utilizando un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Shimadzu, con un muestreador automático SIL-10AF, una bomba LC-10AT cuaternaria, un degasificador DGU-14A, un controlador del sistema CBM-20A y un detector de matriz de diodos SPD-M20A (DAD) según lo descrito por Sanz et al. (2015). La separación cromatográfica se llevó a cabo utilizando una columna ACE C18 PFP de 150 mm x 4,6 mm, tamaño de partícula de 3 µm (Advanced Chromatography Technologies, Aberdeen, Reino Unido) a 40°C. La fase móvil A se preparó con metanol: acetato de amonio 225 mM (82: 12 v/v) y la fase móvil B con etanol. El programa de gradiente se ajustó a un caudal de 1,0 mL min⁻¹. Estándares de referencia certificados para aloxantina (alo), clorofila-a (clor-a), clorofila-b (clor-b), diatoxantina (dit), diadinoxantina (dia), 19-pero fucoxantina (19 pero), fucoxantina de 19 hex. (19 hex), fucoxantina (fuco), luteína (lut), 9-cis-neoxantina (neo), peridina (per), prasinoxantina (pra), violaxantina (vio), zeaxantina (zea) y mezcla 122 (mezcla de 27 pigmentos utilizados para corregir la identificación de estos pigmentos), se obtuvieron de DHI (DHI Laboratory Products, Hoersholm, Dinamarca). El acetato de amonio, el etanol y el metanol fueron de gradiente de HPLC (Merck; Darmstadt, Alemania).

Cribado (“Screening”) de toxinas mediante LC-MS / MS

La presencia de brevetoxinas (PbTx y BTX) y brevenal en extractos metanólicos de *K. selliformis* se analizó en un espectrómetro de masas Waters XEVO TQ-XS tandem de presión atmosférica de



cuadropolo en cuadropolo (API) (Waters, Eschborn, Alemania) equipado con un ZSpray de alto rendimiento fuente dual-ortogonal multimodo (ESI / SPCI / ESCi), acoplada a un sistema Waters Acquity UPLC que consiste en un Waters Acquity UPLC I-Class Solvent Manager, una muestra Waters Acquity UPLC I-Class de flujo a través de aguja (FTN) Manager y un administrador de columnas Acquity UPLC I-Class (CM-A). La separación se realizó después de la inyección de 0,5 μL de extracto de muestra por cromatografía de fase inversa en una fase C18. La columna analítica ($50 \times 2,1 \text{ mm}$) se empaquetó con 130 Å, 1,7 μm C18 y se mantuvo a 40 °C. La velocidad de flujo fue de 0,6 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ y la elución en gradiente se realizó con dos eluyentes, donde el eluyente A era agua que contenía 0,01% de ácido fórmico y 0,05% de hidróxido de amonio, y el eluyente B era acetonitrilo que contenía 0,01% de ácido fórmico. Las condiciones iniciales fueron un equilibrio de columna de 0,5 minutos con 30% de B, seguido de un gradiente lineal a 90% de B en 3 minutos y elución isocrática hasta 4 minutos con 90% de B. El sistema se devolvió en 0,1 minutos a las condiciones iniciales (tiempo de ejecución total: 5 minutos). Los parámetros de espectrometría de masas fueron los siguientes: voltaje capilar 3.5 kV, voltaje de cono 40 V, temperatura de desolvatación 600 °C, flujo de gas de desolvatación 1000 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, flujo de gas de cono 150 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, presión del nebulizador 7.0 bar, gas de colisión flujo 0,15 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, colisión 20 eV, temperatura fuente 150 °C. Los espectros de iones del producto de disociación inducida por colisión (CID) se registraron para el ión pseudomolecular de brevenal (m/z 657). Los espectros CID se registraron en el mismo instrumento en el modo ScanWave Daughter scan (ScanWave DS) en el rango de masa de m/z 50 a 660 y en modo de ionización positiva y resolución de la unidad. Se aplicaron los siguientes parámetros de espectrometría de masas: voltaje capilar 5 kV, voltaje de cono 40V, temperatura de desolvatación 600 °C, flujo de gas de desolvatación 1000 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, flujo de gas de cono 150 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, presión de nebulizador 7.0 bar, gas de colisión flujo 0,15 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, energía de colisión 30 eV, temperatura de la fuente 150 °C. Las transiciones de masa de brevetoxinas y brevenal se establecieron como se detalla en la Tabla 5.1. Las gimnodiminas se seleccionaron en el mismo instrumento y condiciones que las brevetoxinas con dos modificaciones: voltaje capilar 3.0 kV y energía de colisión 40 eV. Los GYM seleccionados y sus transiciones masivas se dan en la Tabla 5.1.

Producción de anión superóxido por *K. selliformis*

Las células de algas intactas y los cultivos lisados de *K. selliformis* se examinaron para la producción de anión superóxido utilizando el método descrito por [Godrant et al. \(2009\)](#). Los cultivos de algas se mantuvieron a 17 °C a 100 μmol de fotón $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (lámparas fluorescentes blancas frías) bajo un ciclo de luz: oscuridad de 12:12 h. En una microplaca de 96 pocillos (CLS3917, Sigma), se mezclaron 3 mL de xantina (X7375, Sigma) a 5 mM con 270 mL de cultivo de algas. Se usó un volumen de 3 mL de superóxido dismutasa (S7571, Sigma) a 5 kU L^{-1} para la corrección del blanco, y se realizó una curva estándar usando tres soluciones estándar de xantina oxidasa (X1875, Sigma) a 0.1, 0.4 y 0.7 U L^{-1} . Se usó un lector de microplacas (FLUOstar OPTIMA, BMG Labtech, 413-3350 Alemania) para controlar la luminiscencia durante 20 minutos después de agregar 5 mL de MCLA, 6- (4-metoxifenil) -2-metil-3,7-dihidroimidazo [1, Hidrocloruro de 2-a] pirazin-3 (7H) -ona (87787, Sigma) a 125 mM.

Extracción y análisis de lípidos.

Los filtros que contienen los cultivos de *K. selliformis* cepa CREAN_KS02 se extrajeron utilizando el método modificado de Bligh y Dyer con diclorometano / metanol / agua (1: 2: 0.8, v / v / v) como lo



describe [Mooney et al., \(2007\)](#). Despu3s de la separaci3n de fases, se recuperaron los l3pidos en la capa inferior de diclorometano y se realiz3 una segunda extracci3n para maximizar la recuperaci3n de los l3pidos. Los disolventes se eliminaron al vac3o mediante evaporador rotativo. Los l3pidos extra3dos se transmetilaron en metanol / cloroformo / 3cido clorh3drico (10: 1: 1, v / v / v) durante 2 h a 85 °C. Despu3s de la adici3n de agua, la mezcla se extrajo tres veces con hexano / cloroformo (4: 1, v / v) para obtener 3steres met3licos de 3cidos grasos (FAME), que se concentraron bajo una corriente de gas n3tr3geno. Las muestras se prepararon a un volumen conocido con la soluci3n est3ndar de inyecci3n interna (FAME 19: 0) y se analizaron por cromatograf3a de gases utilizando un GC 7890N de Agilent Technologies (Palo Alto, CA, EE. UU.) equipado con una silicona met3lica reticulada Equity-1 columna capilar de s3lice fundida (15 mx 0.1 mm id) y un FID. Se utiliz3 helio como gas portador. Las muestras fueron inyectadas por un inyector dividido / sin divisi3n y un inyector autom3tico de la serie 7683B de Agilent Technologies en modo sin divisi3n a una temperatura del horno de 120 °C. Despu3s de 1 minuto, la temperatura del horno se aument3 a 270 °C a 10 °C min⁻¹, luego a 310 °C a 5 °C min⁻¹. Los FAME se identificaron mediante la evaluaci3n de los tiempos de retenci3n de los est3ndares aut3nticos y de laboratorio. Se realizaron an3lisis de cromatograf3a de gases-espectrometr3a de masas (GC-MS) para muestras seleccionadas para la confirmaci3n de identificaciones FAME utilizando un Finnigan Thermoquest GCQ GC-MS equipado con un inyector en columna y utilizando el software Thermoquest Xcalibur (Austin, TX, EE. UU.) El GC se equip3 con una columna capilar de polaridad similar a la descrita anteriormente.

Citotoxicidad

Mantenimiento de la l3nea celular RTgill-W1

La l3nea celular RTgill-W1, aislada de los filamentos branquiales de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* ([Bols et al., 1994](#)), fue adquirida de la American Type Culture Collection (CRL-2523, ATCC). Las c3lulas se cultivaron a 17 °C en la oscuridad en medio L-15 de Leibovitz (L1518 Sigma), suplementado con suero fetal bovino al 10% (v / v) (FBS, 12003C, Sigma) y una soluci3n antibi3tico-antimic3tica (A5955, Sigma) que contiene estreptomicina (10 mg mL⁻¹), anfotericina B (25 mg mL⁻¹) y penicilina (10,000 unidades mL⁻¹) en matraces tratados con cultivo de 25 cm² (3100-025, Iwaki). 0,25% de tripsina - 0,02% de EDTA en la soluci3n salina equilibrada de Hank (59428C, Sigma) se utiliz3 para eliminar las c3lulas que crecieron como una monocapa adherente en el fondo del matraz. Los subcultivos se establecieron normalmente dos veces por semana en una proporci3n de 1: 2 con renovaci3n del medio L-15.

Exposici3n de c3lulas branquiales a *K. selliformis*

El ensayo de citotoxicidad se realiz3 utilizando microplacas convencionales de pocillos m3ltiples seg3n [Dorantes-Aranda et al. \(2011\)](#). Los cultivos de *K. selliformis* a diferentes temperaturas (12, 15 y 18 °C) y tratamientos de salinidad (25, 30 y 35) se realizaron como se explica en la secci3n de crecimiento celular de *K. selliformis*. Los cultivos con c3lulas branquiales confluentes se tripsinizaron para desprendimiento, se contaron usando un hemocit3metro y se ajustaron a una concentraci3n de 2x10⁵ c3lulas mL⁻¹. Posteriormente, las c3lulas branquiales se sembraron por cuadruplicado en microplacas de fondo plano de 96 pocillos (3860-096, Iwaki, Jap3n), utilizando un volumen de 100 mL por pocillo. Despu3s de 48 h a 17 °C en la oscuridad para la uni3n de las c3lulas branquiales, se desech3 el medio



L-15, se enjuagaron las células con PBS y se expusieron a 100 μL de los tratamientos experimentales con dinoflagelado. Se prepararon tratamientos con sobrenadante y células lisadas a partir de cultivos de *K. selliformis* en la fase de crecimiento exponencial a 1000 células mL^{-1} . La suspensión sobrenadante se preparó por centrifugación de cultivos durante 5 minutos a 3500 rpm y luego se diluyó según fuera 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). La exposición de los compuestos intracelulares y extracelulares de *K. selliformis* se llevó a cabo durante 2 h a 17 °C en la oscuridad. La viabilidad se evaluó como se explica en la sección “Ensayo de viabilidad de células branquiales”.

Exposición de las células branquiales a la gimnodimina

Se utilizó un estándar puro de gimnodimina A (NRC CRM-GYM-b) del Consejo Nacional de Investigación (Halifax, NS, Canadá) disuelto en MeOH a 4,93 μM . Las células branquiales se sembraron y trataron como se especifica en la sección “Exposición de células branquiales a *K. selliformis*”. La solución madre de GYM A con una concentración de 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ se diluyó en L15 / ex 9.8% de salinidad en una escala logarítmica a siete concentraciones diferentes que van desde 0.22 a 2.2×10^5 , equivalente a 0.01 a 10,000 células mL^{-1} según a [Medhioub et al. \(2009\)](#), respectivamente. La viabilidad se evaluó como se explica en la sección “Ensayo de viabilidad de células branquiales”.

Ensayo de viabilidad de células branquiales

La viabilidad de las células branquiales se determinó usando medio L-15 / ex, una versión modificada del medio L-15, que contiene 5% del colorante indicador alamarBlue (DAL1025, Invitrogen) ([Pagé et al., 1993](#)). El medio se añadió a todos los pocillos sembrados de células y se incubó durante 2 h en la oscuridad ([Dayeh et al., 2005](#)). Inmediatamente después de la exposición, el medio se desechó y las células se enjuagaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Usando un lector de microplacas (FLUOstar Omega, BMG Labtech 415-2871) se detectó la fluorescencia de alamarBlue con filtros de excitación y emisión de 540 y 590 nm, respectivamente. La viabilidad de las células branquiales se expresó como porcentaje de respuesta de los tratamientos en relación con los controles (% de control).

Crecimiento de *K. selliformis* a diferentes temperaturas y salinidad

Los experimentos de crecimiento de *K. selliformis* se realizaron por triplicado usando matraces estériles, cada uno con 45 ml de medio de cultivo L1 inoculado con 300 células mL^{-1} . La tasa de crecimiento y el rendimiento del cultivo se estudiaron usando un diseño factorial cruzado con 16 condiciones diferentes, combinando cuatro temperaturas (9, 12, 15 y 18 °C) y cuatro salinidades (20, 25, 30 y 35). Para evitar alteraciones en la respuesta fisiológica del inóculo debido a cambios en la temperatura y la salinidad, los cultivos se pre-aclimataron a las condiciones experimentales deseadas mediante transferencia gradual durante un período definido (> 20 días). El experimento se llevó a cabo durante 29 días con muestras tomadas cada 5 - 7 días. La densidad celular se determinó inmediatamente después del muestreo, en base a las células fijas de Lugol tamponadas cuantificadas bajo un microscopio óptico invertido (MoticAE31E) usando una cámara 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 $\mu (\text{d}^{-1})$:



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

Donde c_0 y c_1 son la densidad celular (células mL^{-1}) al comienzo (t_0) y final (t_1) del periodo de incubación (días), respectivamente.

Análisis estadístico

Para explorar el efecto de las variables ambientales sobre el crecimiento y la potencia ictiotóxica de *K. selliformis*, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) a partir de modelos de regresión lineal simple sobre la densidad celular máxima, la tasa de crecimiento específica máxima ($\mu_{\text{máx}}$) y la viabilidad de las células branquiales contra la GYM A y contra compuestos intra- y extracelulares de *K. selliformis*. La normalidad y la homogeneidad de las variaciones 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 diferencia en las respuestas) fue rechazada en todos los análisis estadísticos si el valor p respectivo era <0.05 . Estos análisis se realizaron con el software R v. 3.0.1 ([Ihaka y Gentleman, 1996](#)).

Actividad 2. Identificación en masas de microalgas mediante técnica molecular

Muestreo de fitoplancton y extracción de ADN

Las muestras de fitoplancton fueron recolectadas en primavera en noviembre 2018 y verano en febrero 2019 en 10 sitios de muestreo en el sur de la Isla de Chiloé y norte de la región de Aysén (Fig. 4.5.1; Anexo 2) como parte del subprograma de Fiscalización y Vigilancia. Las muestras de fitoplancton de red fueron filtradas mediante bomba de vacío, usando filtros de fibra de tamaño de poro $0.7\mu\text{m}$, y el material biológico se almacenó en tubos eppendorf de 2ml a -20°C .

La extracción de ADN se hizo mediante el método de CTAB (del inglés Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide), el cual se cuantificó mediante Qubit V4 para determinar su concentración y en geles de agarosa al 1,5% para determinar su integridad. El ADN extraído se conservó a -20°C para posteriores amplificaciones.

Identificación mediante metabarcoding.

Para caracterizar la diversidad de taxa fitoplanctónicos se utilizaron partidores que amplifican la región V4 del gen ribosomal 18s, ya que entrega información taxonómica y filogenética del conjunto de taxa que están presentes en una muestra ([Giner et al 2019](#)). Para secuenciar esta región se realizaron las bibliotecas que luego fueron secuenciadas en un kit de 600 ciclos sobre un secuenciador MiSeq de la plataforma Illumina, siguiendo las instrucciones del protocolo interno del laboratorio AUSTRALomics de la Universidad Austral de Chile. Brevemente, este protocolo consiste en realizar dos pasos de PCR, el primero es una PCR de la región a amplificar (25 ciclos) que agrega además identificadores para cada muestra. Luego se realiza un pool de 36 muestras post PCR y se realiza una segunda amplificación de 8 ciclos que agrega, por una parte, una nueva secuencia identificadora y por otra la secuencia que se



une a la placa de secuenciación. De esta forma meta-pools pueden ser secuenciados en forma conjunta. En las dos PCRs se usó una enzima KAPA HiFi HotStart ReadyMix para amplificar la región objetivo, AMPure XP beads para eliminar de las reacciones los excesos de partidores. Posteriormente, las lecturas pareadas resultantes de la secuenciación se filtraron por calidad. Las lecturas 1 y 2 fueron unidas con el script join_paired_ends.py y las secuencias resultantes se transformaron a unidades taxonómicas operacionales (OTUs, sigla en inglés) equivalentes aproximadamente al nivel taxonómico de especie en base a un agrupamiento definido por un umbral de similitud usando la base de datos PR2 como base de datos de referencia ([Guillou et al 2013](#)).

Previamente, las quimeras (artefactos de la PCR) fueron removidas usando Vsearch ([Rognes et al 2016](#)) con una estrategia Denovo. Se removieron las OTUs cuya asignación taxonómica no correspondía al reino Eucariota, al igual que las OTUs con una abundancia relativa menor a 0.001% del total de secuencias, ya que estos OTUs de muy baja abundancia corresponderían más bien a errores de secuenciación que sobreestiman la diversidad de especies ([Bokulich et al 2016](#)).



5. RESULTADOS

5.1. Objetivo Específico 1:

Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizante (TPM), diarreica (TDM) y amnésica (TAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio.

Los resultados sobre toxinas, fitoplancton nocivo, fitoplancton cualitativo y cuantitativo, y datos hidrográficos y meteorológicos se entregan en el anexo 4.

Actividad 1. Vigilar las variaciones espacio temporales del TPM, TDM y TAM en transvectores selectos en una red de estaciones que cubra representativamente los sectores que comprenden los subprogramas de Monitoreo Regular, Monitoreo de Fiscalización y Vigilancia, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.

Toxina Paralizante de Los Mariscos (TPM)

En la región de Los Lagos, los niveles máximos de toxicidad por TPM alcanzaron entre 28 y 52 $\mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$, siendo el 14% del total de las estaciones monitoreadas las que presentaron muestras con esta toxina detectable (N=37). Las estaciones con muestras tóxicas se localizaron en el sector Chiloé sur y fueron: L22, L22N1, L22N3, L23, L23N2, L24 y L24N1 (B. Asasao, Ens. Quilanlar, Inio, I. Redonda, I. San Pedro, I. San Pedro 2, I. Guapiquilán y I. Guapiquilán 2, respectivamente). Los niveles subtóxicos ($<80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) presentaron una mayor frecuencia durante otoño temprano (abril), otoño tardío (fines de junio), invierno (fines de agosto y septiembre) y primavera (noviembre y diciembre).

La región de Aysén, fue la que presentó el mayor rango de toxicidades por sobre el límite normativo ($80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), que abarcó entre $36\text{-}690 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ por TPM. El 87,3% (N=55) de las estaciones monitoreadas (N=63) estuvieron dentro de este rango. El TPM alcanzó niveles de toxicidad $>80 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ afectaron al 42,9% (N=27) de la región de Aysén, entre marzo y abril de 2019. El nivel máximo de toxicidad ($690 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) ocurrió en la estación A19N1 (seno Ventisquero 1). Los niveles subtóxicos ($<80 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), afectaron al 44,4% (N=28) de las estaciones y ocurrió con mayor frecuencia dentro del periodo de marzo y abril de 2020.

En la región de Magallanes, el resultado predominante durante la etapa XIII fue “No Detectable” (ND). Sin embargo, presentó rangos de toxicidades por sobre el límite normativo ($80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), que abarcó entre los 88 a $436,5 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ por TPM. El 9,5% (N=73) de las estaciones monitoreadas (N=63) estuvieron dentro de este rango. El rango máximo de toxicidad fue $436,5 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$, y ocurrió en el mes de noviembre 2019 en bahía Libertad (M05). Los niveles subtóxicos ($<80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), ocurrieron en un 51% de los sitios monitoreados.



Toxinas Lipofílicas.

Las toxinas lipofílicas (TDM por bioensayo ratón) durante el periodo de monitoreo, fueron detectadas en las 3 regiones administrativas de la macrozona sur-austral de Chile. Aunque la distribución geográfica de este complejo tóxico fue relativamente homogénea, la frecuencia de muestras positivas por estación, fue muy diferente.

Para la región de Los Lagos, el rango de frecuencia con registros positivos fue de 27-32% y se distribuyó en el 54,5% (N=4) de las estaciones monitoreadas (N=33). Estas se concentraron en la zona norte de Chiloé (66,7%), centro (22,2%) y sur (11,1%).

La región de Aysén, presentó en un 92,1% de estaciones (N=63) con muestras positivas. Estas estaciones están distribuidas principalmente en toda la región de Aysén (norte, sur y Tortel).

La región de Magallanes, presentó 16 estaciones (22% del total de estaciones) con una frecuencia de registro positivo >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 región de Aysén.

Toxina amnésica de los mariscos (TAM).

Durante el periodo marzo 2019-febrero 2020, no hubo detección de esta toxina, i.e niveles de TAM no detectables (ND) para la macrozona sur-austral de Chile.

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

***Alexandrium catenella*.**

Para el área de Chiloé norte, no se registró la presencia de *A. catenella* durante todo el periodo de estudio en ninguna de las estaciones. En las estaciones ubicadas en el área de Chiloé centro no se detectaron floraciones durante todo el periodo de estudio; sólo se detectó la presencia puntual de la microalga en algunas estaciones entre abril y el 11 de diciembre con un nivel 1 (raro). Estas estaciones fueron canal Caucahué (L07), isla Mechuque (L08), isla Butachauques 2 (L09), isla Chaulinec 2 (L13N1) y bahía Pumalín (L10N3). La estación isla Butachauques 2 (L09N1) alcanzó el nivel 2 (escaso) en marzo. El área de Chiloé sur, presentó durante este estudio niveles bajos de AR alcanzando valores de 3 (regular) en julio en la estación Yelcho (L19N1) y en los meses de junio y diciembre en Canal Guamblad (L23N1).

En la región de Aysén, se detectó *A. catenella* en Aysén norte durante todo el periodo de monitoreo, los valores más altos de AR en el mes de abril, llegando a un máximo de 6 en seno Ventisquero 1 (A19N1), nivel 5 en seno Ventisquero 2 (A19N2), ambas en abril 2019 y nivel 4 en seno Magdalena (A19) en abril de 2019. El resto de las estaciones no superó el nivel 3. En las estaciones ubicadas en Aysén sur, se detectó *A. catenella* durante todo el estudio, con valor máximo de AR de 6 en isla Canquenes (A26) en



diciembre 2019. Sin embargo, a diferencia de las estaciones de Aysén norte, los valores de AR entre 4 y 6 se detectaron prácticamente durante todo el año a excepción del período otoño-invierno en donde la AR no superó el nivel 3. Las estaciones del área de Tortel presentaron *A. catenella* durante todo el período de estudio, salvo en enero y febrero 2020. La AR máxima fue nivel 3 en isla Orlebar (A55) en agosto y septiembre 2019 y, en islote Porvenir (A62) en agosto 2019.

En las estaciones del área norte de Magallanes, se detectó *A. catenella* durante gran parte del periodo desde marzo 2019 a febrero 2020. A diferencia de la etapa anterior, en la cual la AR estuvo en nivel 3, se detectó nivel 4 de AR prácticamente durante todo el año en algunas estaciones y se alcanzó nivel 5 en noviembre 2019 en isla Salamanca (M06N2), A. Hamond (M03N) y Punta Falsa (M07N1). Las estaciones de Magallanes centro presentaron bajos niveles de AR durante todo el período, alcanzando un máximo de 3 en diciembre 2019 en Cutter Cove (M29), Punta Carrera sur (M36N1), Punta Carrera norte (M36N2), bahía Agua Fresca (M37) y Guairabo norte (M37N2). En las estaciones de Magallanes sur, mantuvieron bajos niveles de AR con la excepción de diciembre 2019 y enero 2020, cuando se registraron nivel 5 en Puerto Williams (M45) en diciembre 2019, Ventisquero España (M41) y ventisquero Holanda (M42), ambas en enero 2020.

Alexandrium ostenfeldii

Para Chiloé norte no se registraron abundancias elevadas entre marzo 2019 y febrero 2020, sin embargo, fue detectada durante toda esta etapa principalmente durante julio y agosto 2019, y enero 2020 (cruceros 4, 5 y 10) en que algunas estaciones alcanzaron niveles de AR entre 4 (abundante) y 5 (muy abundante). Isla Caicura (L06N1) alcanzó nivel 4 en julio 2019 y, nivel 5 en agosto 2019, Bahía Ilque (L04N2) registró AR=4 en agosto 2019, y Paso Nao (L06N2) alcanzó 4 en agosto 2019 y enero 2020. En el resto del periodo de estudio, los niveles de AR se mantuvieron bajos no superando el nivel 3 (regular) en la mayoría de las estaciones.

En el área de Chiloé centro, se observó la presencia de esta microalga durante todo el período de muestreo con valores de AR entre 1 (raro) y 5 (muy abundante) entre marzo y septiembre de 2019 y un nivel máximo de 7 (hiper abundante) en isla Butachauques (L09N1) en marzo 2019. Las estaciones canal Caucahué (L07), isla Butachauques (L09) y Ayacara (L10), registraron una AR= 5 en marzo y septiembre de 2019, al igual que las estaciones isla Quehui (L12) y sólo para marzo de 2019. Para Chiloé sur, se observó durante todo el periodo de estudio, presentando valores bajos, sin embargo, algunas estaciones presentaron valores de AR de 4 (abundante) y 5 (muy abundante) entre marzo y septiembre de 2019 y entre enero y febrero de 2020 y mostró nivel 6 (extremadamente abundante) el 1 de julio de 2019 en Yelcho (L19N1).

En Aysén norte, se observó durante toda la etapa con valores que no superaron el nivel 3 (regular). Sólo en seno Magdalena (A19) alcanzó una AR=4 en noviembre 2019. Similar situación ocurrió en Aysén sur, donde se detectó la presencia durante todo el periodo de monitoreo, aunque con una abundancia mayor que en Aysén norte. La estación Colonia Grande (A52) alcanzó una AR=4 en marzo 2019. En mayo 2019, los niveles de AR variaron entre 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante) siendo isla Orestes (A23) donde alcanzó AR=6. Entre octubre de 2019 y febrero de 2020 los niveles de la AR



estuvieron entre 4 y 6 y abarcó una gran extensión geográfica principalmente durante octubre, mes que en isla Ester (A32N1) alcanzó una AR=6. Para Tortel no se observaron abundancias altas durante todo el periodo de estudio, manteniéndose en valores bajos entre 1 (raro) y 3 (regular), con excepción de mayo 2019 donde alcanzaron 4 (abundante) en isla Scout (A57) e islote Porvenir (A62).

La zona norte de Magallanes se mantuvo con valores altos de AR de *A. ostenfeldii* durante gran parte del periodo entre abril de 2019 y febrero de 2020 con valores entre 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante) y un máximo de 8 (ultra abundante) en abril 2019 en M04 (Canal Adalberto) y M05 (Bahía Libertad). En Magallanes centro, los niveles de AR fueron bajos durante todo el periodo de estudio no superando el nivel 2 (escaso). En Magallanes sur, los niveles de AR también fueron bajos, no superando el nivel 3 (regular) que se presentó en diciembre de 2019.

Dinophysis acuminata.

Este dinoflagelado se detectó en las 3 regiones administrativas entre marzo 2019 y febrero 2020. Se observó un patrón latitudinal respecto de su abundancia relativa. En el área de Chiloé norte, los niveles de AR fueron altos durante todo el estudio y variaron entre 1 (raro) y 10 (>mega abundante). Este nivel 10 se presentó en Yates (L02) y Sotomó (L02N1) en marzo 2019. En Chiloé centro, los niveles de AR también fueron altos durante todo el estudio con valores entre 1 (raro) y 8 (ultra abundante). Se observó que en julio de 2019 (crucero 5) hubo un descenso en el nivel de AR y sólo en isla Talcán (L14) alcanzó nivel 4 (abundante) en julio 2019. En Chiloé sur, estuvo entre 0 (ausente) y 9 (mega abundante). Valores de AR por sobre 3 se observaron durante gran parte del estudio, siendo bahía Tic-Toc (L25) la que alcanzó nivel 9 en enero 2020. En Aysén norte, estuvo entre ausente (0) y nivel 10 (>mega abundante). En abril de 2019 se observó una floración de esta microalga en el grupo de estaciones comprendidas entre seno Magdalena (A19) y Puerto Amparo (A21) ya que la AR estuvo entre 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante). Entre mayo (crucero 2) y octubre de 2019 (crucero 7) la AR fue baja ya que no superó el nivel 3 (regular). A partir de noviembre de 2019 (crucero 8) se observó un incremento en la AR, llegando a nivel 10 (>mega abundante) en seno Miller (A14) y seno Ventisquero 2 (A19N2) en enero 2020 (crucero 10). En Aysén sur, también se observó la presencia de esta microalga entre ausente (0) y >mega abundante (10). Al igual que en Aysén norte, se observaron valores altos de AR en marzo y abril de 2019 (niveles 4 a 7). A partir de mayo de 2019 (crucero 3) y hasta septiembre 2019 (crucero 6) los niveles de AR disminuyeron en la mayoría de las estaciones, sólo en mayo de 2019 las estaciones isla Julián (A30) e isla Vergara (A32) se registró nivel 4 de AR. A partir de octubre 2019 (crucero 7) los valores de AR incrementaron llegando a nivel 10 en febrero de 2020 (crucero 11). En Tortel las AR estuvieron entre 1 y 10. La mayoría de las estaciones registraron valores altos (desde 4 a 10) durante el periodo de estudio, siendo A62 (islote Porvenir) la que presentó un nivel 10 (>mega abundante) el 13 de febrero de 2020 (crucero 11). En Magallanes norte, la AR varió entre 0 (ausente) y 9 (mega abundante). Entre mayo de 2019 y julio de 2019 (cruceros del 2 al 5) se observaron valores de AR entre el nivel 4 (abundante) y 9 (mega abundante), luego la AR disminuye entre septiembre y octubre de 2019 (cruceros 6 y 7) en donde la AR no superó el nivel 3. A partir de noviembre de 2019 y hasta febrero de 2020 la AR vuelve a aumentar llegando en algunas estaciones el nivel 9 en enero de 2020 (crucero 10). A diferencia de Magallanes norte, Magallanes centro presentó niveles bajos de AR, en donde sólo Pta. Carrera Norte (M36N2) en diciembre de 2019 (crucero 9) y M36N1 en enero de 2020



(crucero 10) alcanzaron un nivel 4 (abundante). En Magallanes sur, los valores de AR fluctuaron entre 0 y 9, pero sólo entre diciembre 2019 y enero 2020 (cruceros 9 y 10) se registraron valores altos de AR (entre nivel 4 y 9) siendo M40 (seno Ventisquero) la que registró nivel 9 (mega abundante) en diciembre 2019.

Dinophysis acuta.

En la región de Los Lagos, sólo se detectó en Chiloé centro y sur, pero con bajas AR, en donde sólo L19N1 (Yelcho), alcanzó un nivel 2 (escaso) en abril de 2020 (crucero 1). En Aysén norte, la AR no superó el nivel 3 (regular) con excepción de A19N1 (seno Ventisquero 1) y A19N2 (seno Ventisquero 2) que en abril de 2019 (crucero 1) alcanzaron nivel 6 de AR (extremadamente abundante). En Aysén sur, sólo se registraron valores intermedios de AR (niveles 4 al 7) entre marzo y abril de 2019 (cruceros 1 y 2) y en febrero de 2020 (crucero 11), en este mes A48N1 registró nivel 7. En Tortel, los niveles de AR fueron bajos en la mayor parte del estudio y sólo se registró nivel 1 en islote Porvenir (A62) (Islote Porvenir) en febrero 2020 (crucero 11). En Magallanes norte, la AR fue baja durante todo el estudio, no superando el nivel 3 (regular). En Magallanes centro y sur no se detectó la presencia de este dinoflagelado, con la excepción de Puerto Eugenia (M46) que en enero de 2020 (crucero 10) registró nivel 1 (raro).

Protoceratium reticulatum.

Este dinoflagelado productor de yesotoxinas, presentó bajos niveles de AR en Chiloé norte la mayor parte del estudio y sólo en marzo y abril de 2019 se registraron valores altos. El nivel más alto de AR fue 6 (extremadamente abundante) en Yates (L02) y Sotomó (L02N1) en marzo de 2019 (crucero 1). En Chiloé centro, la AR fue baja durante todo el estudio y como máximo se registró nivel 4 (abundante) en Ayacara (L10) en marzo y abril de 2019 (cruceros 1 y 2) e isla Butachauques 2 (L09N1) en abril 2019. En Chiloé sur también registró bajos niveles de AR durante todo el estudio y sólo Auchemó (L17) alcanzó nivel 4 (abundante) en abril de 2019. En Aysén norte en abril y mayo de 2019 la máxima AR alcanzó el nivel 6 en seno Ventisquero 1 (A19N1) y seno Ventisquero 2 (A19N2), luego entre junio y diciembre de 2019 la AR disminuyó sustantivamente en estos sitios observándose valores entre 0 y 3, luego a partir de enero de 2020 se registró un aumento en la AR alcanzando un máximo de 7 en isla Manuel (A15) en febrero de 2020 (crucero 11). En Aysén sur se registraron niveles bajos de AR durante la mayor parte del estudio y solamente febrero de 2020 se registraron valores altos de AR, llegando a un máximo de 6 en isla Ester (A32N1). De igual modo, en Tortel, se observó que sólo en isla Orlebar (A55) e islote Porvenir (A62) se registró nivel 5 (muy abundante) en marzo de 2019, durante el resto del estudio las estaciones no superaron el nivel 3. En Magallanes norte, se presentaron bajos niveles de AR durante todo el estudio y sólo nivel 4 en canal Adalberto (M04) en abril 2020 y en bahía Liberta (M05) en mayo 2019. En Magallanes centro, no se registró la presencia con la excepción de isla Contramaestre Sur (M39D1) que registró nivel 1 en febrero 2020. Las estaciones de Magallanes sur no registraron la presencia de este dinoflagelado durante todo el estudio.

Pseudo-nitzschia cf. australis.

Esta diatomea se encontró en Chiloé norte con AR entre 0 y 10. Las estimaciones más altas se registraron enero y febrero de 2020, cuando L04 (Calbuco, Paso Quenu) y L06N3 (Pichicolo) alcanzaron



nivel 10. En Chiloé centro se detectó la presencia durante todo el estudio con AR entre 1 y 10. Los niveles más bajos se observaron entre junio y septiembre de 2019 en que no superó el nivel 4, excepto en L12 (Isla Quehui) que alcanzó nivel 5 en septiembre de 2019. A partir de octubre se observó un incremento gradual en los niveles de AR llegando a los máximos en febrero de 2020 en donde todas las estaciones presentaron niveles entre 8 y 10 evidenciando una floración de esta diatomea en esta área. En Chiloé sur, los niveles de AR estuvieron entre 0 y 9. Entre junio y diciembre de 2019 la AR no superó el nivel 3 en la mayoría de las estaciones, con la excepción de L16 (Isla Acui) y L22N1 (Ensenada Quilánlar) que registraron niveles 7 y 5, respectivamente, en noviembre de 2019. En enero y febrero de 2020 se registraron los niveles más altos de AR, pero en muy pocas estaciones. El nivel más alto (nivel 9) se registró en L17N2 (Isla Tranqui) y L25 (Bahía Tic Toc) en enero de 2020. En Aysén Norte, la AR varió entre 0 y 7, sin embargo, durante la mayor parte del estudio no superó el nivel 3 en la mayoría de las estaciones. En marzo de 2019, A39 (Puerto Lampazo), A40 (Isla Silachilu) y A41 (Canal Ninualac) alcanzaron nivel 7, luego a partir de octubre de 2019 (crucero 7) se observó un aumento gradual de los estimadores de AR. En enero de 2020 (crucero 10) la AR varió entre 4 y 6 en la mayoría de las estaciones y A02N1 (Repollal Bajo-Canal Puquítin) alcanzó nivel 7. En Aysén sur, se presentaron niveles entre 0 y 8. En marzo y abril de 2019, todas las estaciones presentaron estimadores altos de AR (entre 4 a 8), lo que evidencia una floración, luego entre mayo y septiembre de 2019, la AR decayó notoriamente en todas las estaciones, no superando el nivel 3. A partir de octubre de 2019, la AR comenzó a incrementar gradualmente. Entre diciembre de 2019 y febrero de 2020 todas las estaciones presentaron valores altos de AR (entre 4 y 7), lo que evidencia una nueva floración. En Tortel, se observó esta especie durante todo el estudio. Entre julio y septiembre de 2019 todas las estaciones presentaron AR entre 4 y 6, lo que indica una floración de esta diatomea durante este período, luego entre octubre de 2019 y enero de 2020 la AR decayó en todas las estaciones en donde no se superó el nivel 2. En febrero de 2020 se observó una nueva floración ya que todas las estaciones presentaron niveles altos de AR, siendo A57 (Isla Scout) y A62 (Islote Porvenir) las que presentaron los valores más altos (nivel 7). En Magallanes norte se observaron valores altos de AR prácticamente durante todo el período del estudio, llegando como máximo a nivel 8 en M25N (Estero Ringdove) y M09 (Estero Pengüin) en mayo de 2019 y M24N1 (Paso Piloto Pardo) en septiembre de 2019. En Magallanes centro se observaron valores intermedios en marzo de 2019 ya que la mayoría de las estaciones presentaron altos valores de AR, entre niveles 4 y 6. Entre abril y agosto de 2019 prácticamente no se detectó la presencia de esta microalga y en sólo tres estaciones registraron nivel 1. A partir de septiembre de 2019 hasta febrero de 2020, se detectó nuevamente la presencia, pero con niveles bajos de AR, sin embargo, en diciembre de 2019 se detectó un incremento en la abundancia, ya que en la mayoría de las estaciones la AR varió entre 5 y 6. En Magallanes sur la AR fue baja durante todo el período del estudio ya que la mayoría de las estaciones no superó el nivel 3. La única excepción ocurrió en diciembre ya que todas las estaciones registraron valores de AR entre 5 y 6.

Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima.

Esta diatomea se detectó durante todo el período del estudio en Chiloé norte con AR entre los niveles 0 y 10. En enero y febrero de 2020 se observó un aumento en la abundancia en la mayoría de las estaciones con valores por sobre nivel 4. El máximo valor de este estimador fue nivel 10 en Caleta La Arena) (L03) y Calbuco - Paso Quenu (L04) durante el enero 2020. En Chiloé centro estuvo presente



durante todo el período del estudio. Entre marzo y septiembre de 2019 se registraron los niveles de AR más bajos ya que la mayoría de las estaciones no superó el nivel 3. A partir de octubre de 2019 y hasta febrero de 2020 la AR registró un aumento alcanzando nivel 10 en enero de 2020 en L09 Isla Butachauques, L10 Ayacara y L10N2 Isla Talcán 2. Durante este período gran parte de las estaciones presentaron AR que varió 5 y 9 reflejando una floración. En Chiloé sur la mayoría de las estaciones presentaron bajos niveles de AR durante el estudio. Entre noviembre de 2019 y febrero de 2020 algunas estaciones registraron valores que variaron entre 4 y 9. Las estaciones que registraron los valores más altos fueron L17 Auchemó y L17N2 Isla Tranqui con nivel 8 y L17N1 Estero Palvitad y L25 Bahía Tic Toc con nivel 9 en enero de 2020. En Aysén norte la presencia de esta especie se registró en la mayoría de las estaciones durante todo el estudio. Entre marzo y mayo de 2019 algunas estaciones registraron AR entre 4 y 9, siendo la estación A19N1 Seno Ventisquero 1 la que registró el nivel más alto. Entre junio y agosto de 2019 la AR registró bajos valores en los estimadores, no superando el nivel 2 en la mayoría de las estaciones. A partir de septiembre de 2019, los niveles de AR aumentaron gradualmente y entre noviembre de 2019 y febrero de 2020 casi la totalidad de las estaciones registraron valores entre 4 y 9. Las estaciones de Aysén sur registraron altos valores en los niveles de AR durante todo el estudio, alcanzando nivel 8 en algunas estaciones. Sólo en junio y julio se observó una disminución en la AR cuando la mayoría de las estaciones no superó el nivel 3. En Tortel la AR fue baja durante todo el estudio no superando el nivel 3, a excepción de septiembre de 2019 cuando 4 de las 5 estaciones registraron nivel 5 y de febrero de 2020 en donde A55 Isla Orlebar y A57 Isla Scout registraron nivel 6. En Magallanes norte, la AR varió entre 0 y 7 y estuvo presente en la mayoría de las estaciones durante todo el estudio. Entre marzo y julio de 2019, los niveles de AR fueron bajos, salvo algunas estaciones que registraron niveles 4 y 5 durante este período. En septiembre de 2019 en cambio, la AR presentó valores altos en todas las estaciones, salvo en cuatro estaciones en donde no se superó el nivel 3. Las estaciones M25N Estero Ringdove, M16 Isla Piazzzi, M16N1 Isla Rennell y M17 Caleta Williams presentaron los valores más altos de AR, alcanzando el nivel 7. Entre noviembre y diciembre de 2019 decayó la AR y ninguna estación superó el nivel 3, sin embargo, entre enero y febrero de 2020 se observó un repunte en la AR alcanzando algunas estaciones niveles 4 y 5. En Magallanes centro, durante marzo de 2019 todas las estaciones registraron AR entre 5 y 8 con la excepción de M35 Cabo San Isidro que registró nivel 1. Las estaciones que presentaron nivel 8 fueron M26 Estero Wickham, M34 Seno Pedro y M39D2 Isla Contra maestre Este. Sin embargo, entre abril y noviembre de 2019 se registró un notorio descenso en los niveles de abundancia relativa sobre todo entre abril y agosto de 2019 en donde prácticamente no se detectó esta microalga y algunas estaciones registraron nivel 1. En octubre, Agua Fresca (M37) y Guairabo sur (M37N1) presentaron nivel 4. En diciembre de 2019 se observó otro aumento en la abundancia ya que la AR en estas estaciones varió entre 4 y 5, con la salvedad de siete estaciones que no superaron el nivel 3. Este aumento en la abundancia fue acotado sólo a este mes ya que en enero y febrero 2020 ninguna estación superó el nivel 2. En Magallanes sur, la presencia fue escasa ya la AR varió entre 0 y 3 durante todo el estudio, con la excepción de diciembre de 2019 en que todas las estaciones registraron nivel 4.

Actividad 3. Conocer la abundancia y distribución espacio temporal de especies que componen el fitoplancton en la red de estaciones de estudio.



No se incorpora un análisis de la información referida a esta actividad para el período marzo 2019 y febrero 2020, dado que estos antecedentes son analizados considerando un lapso más extenso (e.g. 10 años), a partir de los cuales sea posible definir configuraciones espacio temporales consistentes. Consecuentemente todos los resultados relativos a la distribución y abundancia del fitoplancton están incluidos en el objetivo 3.

Actividad 4. Recolectar información hidrográfica y meteorológica en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.

Se presenta en un análisis general estacional y latitudinal de los resultados obtenidos entre marzo 2019 y febrero 2020 para los estratos 0-10 y 10-20 respecto de nutrientes (nitrato, nitrito, fosfato y silicato), salinidad y temperatura. Para cada variable se incluye un cuadro que resume la información entregada (Cuadros 2 - 8). No se incluye un análisis de los datos meteorológicos puntuales que se recogen en cada sitio de muestreo durante el período de estudio.

Nitrato (NO_3^-)

Las concentraciones promedio de este analito variaron entre $1,58 \pm 1,44 \text{ uM}$ ($\bar{x} \pm \text{sd}$) registrado en primavera en el estrato 0-10m en la región de Magallanes y $21,90 \pm 4,92 \text{ uM}$ observado en invierno en el estrato 10-20m en la región de Los Lagos. En líneas generales se aprecia que las tres regiones administrativas, en las cuatro estaciones del año, con excepción del otoño en la región de Magallanes, las concentraciones promedio de este analito fueron más altas en el estrato de 10-20m, si bien las dispersiones sugieren que estas concentraciones, entre estratos, son similares. De las tres regiones aquella que presentó las concentraciones promedio más altas fue la región de Los Lagos, y además, las concentraciones promedio disminuyen con la latitud. A continuación, se entrega una síntesis de lo que ocurre para cada región. Los resultados se presentan en las figuras 5.1.1-5.1.2 y cuadro 3.

Región Los Lagos

En otoño, para el estrato 0-10m la máxima concentración fue de $27,49 \text{ uM}$ en Caulin (L05N1), y el mínimo en Yates (L02) con $1,66 \text{ uM}$. El promedio para la región durante otoño fue de $13,38 \pm 5,63 \text{ uM}$. En invierno, la concentración promedio fue de $18,72 \pm 5,39 \text{ uM}$, con un máximo en Butachauques (L09) con $25,14 \text{ uM}$, el mínimo se registró en Pichicolo (L06N3) con $7,47 \text{ uM}$. Para primavera el valor promedio fue de $15,16 \pm 5,89 \text{ uM}$, el máximo se registró en Quehui (L12) con $23,70 \text{ uM}$, y el mínimo fue de $3,64$ en Auchemó (L17). En verano, la máxima concentración fue de $20,58$ en Isla Tranqui (L17N2) y la mínima en Calbuco (L04) con $0,07 \text{ uM}$, el promedio fue de $6,26 \pm 5,45 \text{ uM}$.

En el estrato 10-20, la concentración promedio durante otoño 2019, fue de $14,94 \pm 6,49 \text{ uM}$, el máximo se registró en Yates (L02) con $30,88 \text{ uM}$ y el mínimo fue en Pichicolo (L06N3) con $2,68 \text{ uM}$. En invierno, se registró un promedio de $21,90 \pm 4,92 \text{ uM}$, en tanto que el valor máximo ocurrió en Hueihue (L06) con $26,39 \text{ uM}$ y el mínimo fue $0,05$ en Isla Acui (L16). Para primavera el promedio fue de $14,47 \pm 7,32 \text{ uM}$, el máximo fue de $26,22$ en Pichicolo (L06N3) y el mínimo en Isla Acui (L16) de $1,19 \text{ uM}$. Durante verano, el promedio fue de $9,80 \pm 6,20 \text{ uM}$, y el máximo se registró en Paso Nao (L06N2) con $21,37 \text{ uM}$ y el mínimo fue de $0,47$ en Pichicolo (L06N3).



Cuadro 3. M3nimos, m3ximos, promedios y desviaci3n est3ndar de las concentraciones de nitrato para los estratos 0-10m y 10-20m, en otoño, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Datos en uM.

Regi3n de Los Lagos					
Nitrato	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Otoño 2019	0-10	1,66	27,49	13,38	5,63
	10-20	2,68	30,88	14,94	6,49
Invierno 2019	0-10	7,47	25,14	18,72	5,39
	10-20	0,05	26,39	21,90	4,92
Primavera 2019	0-10	3,64	23,70	15,16	5,89
	10-20	1,19	26,22	14,47	7,32
Verano 2020	0-10	0,07	20,58	6,26	5,45
	10-20	0,47	21,37	9,80	6,20
Regi3n de Ays3n					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Otoño 2019	0-10	0,15	23,48	7,72	5,32
	10-20	0,70	22,87	9,07	5,82
Invierno 2019	0-10	0,49	23,20	8,58	5,73
	10-20	0,66	23,93	9,91	6,29
Primavera 2019	0-10	0,04	14,50	5,84	4,46
	10-20	0,36	18,59	7,12	5,68
Verano 2020	0-10	0,06	10,14	4,18	2,50
	10-20	0,07	13,73	5,68	2,95
Regi3n de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Otoño 2019	0-10	0,13	29,20	3,14	4,13
	10-20	0,28	10,07	2,55	2,16
Invierno 2019	0-10	0,14	8,42	3,00	1,88
	10-20	0,15	49,78	4,68	7,80
Primavera 2019	0-10	0,04	6,64	1,58	1,44
	10-20	0,06	11,13	2,35	1,69
Verano 2020	0-10	0,02	7,73	2,45	2,49
	10-20	0,01	9,30	3,25	2,42

Regi3n de Ays3n

La concentraci3n promedio de nitrato para el estrato de 0-10m durante otoño 2019 fue de $7,72 \pm 5,32$ uM, en tanto que el m3nimo fue de 0,15 en Isla Toto (A13) y el m3ximo se registr3 en Santo Domingo (A09) con 23,48 uM. Durante invierno la concentraci3n promedio fue de $8,58 \pm 5,73$ uM, el m3ximo fue de 23,20 uM en Canal Darwin (A49) y el m3nimo de 0,49 en Isla Julia (A04). En primavera para el estrato 0-10 uM, el promedio fue de $5,84 \pm 4,46$ uM, mientras que el m3ximo fue de 14,50 uM en Isla Ovalada



(A05) y el mínimo de 0,06 en Isla Orlebar (A55). En verano el promedio fue de $4,18 \pm 2,50$ uM, donde el máximo se registró en Puerto Barrientos (A03) con 10,14 uM y el mínimo en Canal Magdalena (A19) con 0,06 uM.

Para el estrato 10-20m en el otoño 2019, el máximo registrado fue de 22,87 uM en Puerto Barrientos (A03), y el mínimo en Islote Porvenir (A62) con 0,70 uM, en tanto que el promedio para esta estación del año fue de $9,07 \pm 5,82$ uM. En invierno, la concentración promedio fue de $9,91 \pm 6,29$ uM, con un máximo en Canal (A07) con 23,39 uM, el mínimo se registró en Isla Isquiliac (A49N1) con 0,66 uM. En primavera el promedio fue de $7,12 \pm 5,68$ uM, el máximo se registró en Laja Brazo Pillan 1 (A06) con 18,59 uM y el mínimo fue de 0,36 registrado en Cinco Hermanos (A24). En verano, el promedio fue de $5,68 \pm 2,95$ uM, la máxima 13,73 uM en Puerto Bonito (A29) y la mínima 0,07 registrada en Uspallante (A20N1).

Región de Magallanes

En otoño, la concentración promedio de nitrato para el estrato de 0-10m fue de $3,14 \pm 4,13$ uM, mientras que el mínimo fue de 0,13 uM en Isla Figueroa (M12) y el máximo en Río Douglas (M44N1) con 29,20 uM. Durante invierno el promedio fue de $3,00 \pm 1,88$ uM, el máximo fue de 8,42 uM en Bahía Liberta (M05) y el mínimo fue de 0,14 en Cutter Cuve (M29). Para primavera la concentración promedio fue de $1,58 \pm 1,44$ uM, el máximo fue 6,64 en Bahía Fanny (M24), y el mínimo fue 0,04 uM en Ventisquero Holanda (M42). En verano, el promedio fue $2,45 \pm 2,49$ uM, el máximo se registró en Ventisquero Holanda (M42) con 7,73 uM y el mínimo en Bahía Mussel (M30) con 0,01 uM de nitrato.

Para el estrato de 10-20m durante otoño 2019 la media fue de $2,55 \pm 2,16$ uM, el mínimo fue de 0,28 uM en Isla Ballesteros (M23) y el máximo 10,07 uM en Dalmacia (M39N4). Durante invierno, el promedio fue $4,68 \pm 7,80$ uM, mientras que el máximo fue 49,78 en Bahía Liberta (M05) y el mínimo fue 0,15 en Cutter Cuve (M29). En primavera, el nitrato promedio fue $2,35 \pm 1,69$ uM, el máximo 11,13 en Angostura (M39N1) y el mínimo 0,01 uM en Seno Ventisquero (M40). En verano, la media fue $3,25 \pm 2,42$ uM, y el máximo 9,30 uM en Isla Morton (M01N), en tanto que el mínimo fue en Isla Engelfield (M29N1) con 0,01.

Nitrito (NO_2^-)

Los resultados se presentan en las figuras 5.1.3 y 5.1.4 y cuadro 4. Las estimaciones promedio variaron entre $0,17 \pm 0,14$ uM registrado en invierno en el estrato 10-20m en la región de Los Lagos y $1,07 \pm 0,91$ uM en otoño en el mismo estrato en la región de Magallanes. Al considerar la información de manera general para las tres regiones, no se advierte ningún patrón, si bien las concentraciones son muy bajas, y sólo en una oportunidad en otoño en el estrato de 10-20m en la región de Magallanes se registró una estimación promedio superior a 1 uM, pues en todas las otras situaciones fueron inferiores. A continuación, se entrega una síntesis del comportamiento de este analito en cada región considerada.



Región Los Lagos

Las concentraciones de nitrito para el estrato 0-10, durante otoño de 2019, tuvo un máximo de 0,87 μM en Pichicolo (L06N2), y el mínimo en Butachauque (L09) de 0,12 μM , con un promedio de $0,44 \pm 0,19 \mu\text{M}$. Durante invierno, el mínimo fue de 0,02 μM en Butachauque (L09) y el máximo de 0,89 en Auchemó (L17), el promedio para esta estación del año fue de $0,24 \pm 0,19 \mu\text{M}$. En la primavera de 2019, el promedio fue de $0,26 \pm 0,30 \mu\text{M}$, donde el máximo fue de 1,43 μM en Isla Tranqui (L17N2), el mínimo fue de 0,01 μM en Yates (L02). En verano 2020, el máximo fue de 1,00 μM en Bahía Tic-Toc (L25), el promedio de $0,24 \pm 0,19 \mu\text{M}$, y el mínimo fue de 0,01 μM en Isla Caicura (L06N1), hasta el sector de Paso Nao (L06N2).

Para el estrato de 10-20m en otoño de 2019 el promedio fue de $0,46 \pm 0,24 \mu\text{M}$, el mínimo fue de 0,01 μM en Isla Acui (L16) y el máximo 1,22 μM , en Pichicolo (L06N3). Durante invierno el promedio fue de $0,24 \pm 0,19 \mu\text{M}$, el máximo de 1,17 registrado en Metri (L01) y el mínimo de 0,01 en la Isla Tranqui (L17N2). Para primavera el promedio fue de $0,22 \pm 0,18 \mu\text{M}$, el máximo de 0,79 en Isla Tranqui (L17N2) y el mínimo de 0,01 μM en Chaulinec (L13). En verano, el promedio fue de $0,24 \pm 0,19 \mu\text{M}$, el máximo se registró en Yates (L02) con 0,62 μM y el mínimo en Hueihue (L06) con 0,01 μM .

Región de Aysén

La concentración promedio de nitrito en el estrato 0-10m durante otoño 2019, fue de 0,37 μM , el máximo ocurrió en Isla Toto (A13) con 1,42 μM , el mínimo fue en Puerto Bonito (A29) con 0,12 μM . En invierno, se registró una concentración promedio de $0,34 \pm 0,46 \mu\text{M}$, el máximo se registró en Uspallante (A20N1) con 3,34 μM y el mínimo de 0,01 fue en Isla Virginia (A01). Para primavera el promedio fue de $0,59 \pm 0,82 \mu\text{M}$, el máximo fue de 4,00 en Puerto Barrientos (A03) y el mínimo en Cinco Hermanas (A24) de 0,01 μM . Durante verano, el promedio fue de 0,67 μM , y el máximo se registró en Isla Cauquenes (A26) con 1,14 μM y el mínimo fue de 0,01 μM en F. Marta-C (A20).

La concentración promedio de nitrito para 10-20m durante otoño 2019 fue de $0,36 \pm 0,24 \mu\text{M}$, el mínimo 0,02 μM en isla Ovalada (A05) y el máximo en Cinco Hermanas (A24) con 1,50 μM . Durante invierno el promedio fue de $0,40 \pm 0,55 \mu\text{M}$, el máximo 4,00 μM en Isla Broken (A05N2) y el mínimo 0,01 en Playa Corta (A08N2). Para primavera la media fue $0,57 \pm 0,79 \mu\text{M}$, el máximo 3,21 μM en Seno Magdalena (A19), y el mínimo 0,01 μM en Isla Virginia (A01). En verano, el promedio fue $0,60 \pm 0,49 \mu\text{M}$, el máximo 2,07 μM en Isla Toto (A13) y el mínimo en Isla Broken (A05N2) con 0,01 μM de nitrito.

Región de Magallanes

La concentración promedio de nitrito para 0-10m durante otoño 2019 fue de $0,63 \pm 0,98 \mu\text{M}$, el mínimo de 0,01 en isla Ballesteros (M23) y el máximo 2,57 μM en Isla Figueroa (M12). Durante invierno la media fue de $0,58 \pm 0,93 \mu\text{M}$, el máximo 3,23 en Seno Ventisquero (M40) y el mínimo 0,01 μM en Bahía Mussel (M30). Para primavera, el promedio fue $0,25 \pm 0,18 \mu\text{M}$, el máximo de 0,58 en Bahía Mussel (M30) y el mínimo de 0,05 μM en Angostura (M39N1). En verano, la media fue de $0,37 \pm 0,68 \mu\text{M}$, el máximo 3,57 μM en Isla Olga (M40N1) y el mínimo en Bahía Mussel (M30) con 0,01 μM .

En otoño 2019 para el estrato 10-20m, la máxima fue de 2,86 μM en Ventisquero Holanda (M42), y el mínimo en Cutter Cove (M29) con 0,01 μM , el promedio durante otoño fue de $1,07 \pm 0,91 \mu\text{M}$. Para



invierno, el promedio fue de $0,69 \pm 0,86 \mu\text{M}$, con un máximo en Puerto Navarino (M44) con $3,57 \mu\text{M}$, el mínimo se registró en Cabo San Isidro (M35) con $0,01 \mu\text{M}$. Para primavera el valor promedio fue de $0,35 \pm 0,53 \mu\text{M}$, el máximo se registró en Canal Adalberto (M04) con $1,43 \mu\text{M}$ y el mínimo fue $0,01 \mu\text{M}$ en Isla Figueroa (M12). En verano, el promedio fue de $0,38 \pm 0,55 \mu\text{M}$, la máxima concentración fue de $2,36 \mu\text{M}$ en Caleta Williams (M17) y la mínima en Isla Olga (M40N1) con $0,01 \mu\text{M}$.

Cuadro 4. Mínimos, máximos, promedios y desviación estándar de las concentraciones de nitrito para los estratos 0-10m y 10-20m, en otoño, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Datos en μM .

Región de Los Lagos					
Nitrito	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Otoño 2019	0-10	0,12	0,87	0,44	0,19
	10-20	0,01	1,22	0,46	0,24
Invierno 2019	0-10	0,02	0,89	0,24	0,19
	10-20	0,01	0,67	0,17	0,14
Primavera 2019	0-10	0,01	1,43	0,26	0,30
	10-20	0,01	0,79	0,22	0,18
Verano 2020	0-10	0,01	1,00	0,24	0,19
	10-20	0,01	0,62	0,24	0,14
Región de Aysén					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Otoño 2019	0-10	0,12	1,42	0,37	0,21
	10-20	0,02	1,50	0,36	0,24
Invierno 2019	0-10	0,01	3,34	0,34	0,46
	10-20	0,01	4,00	0,40	0,55
Primavera 2019	0-10	0,01	4,00	0,59	0,82
	10-20	0,01	3,21	0,57	0,79
Verano 2020	0-10	0,01	1,14	0,67	0,37
	10-20	0,01	2,07	0,60	0,49
Región de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Otoño 2019	0-10	0,01	2,57	0,63	0,98
	10-20	0,01	2,86	1,07	0,91
Invierno 2019	0-10	0,01	3,43	0,58	0,93
	10-20	0,01	3,57	0,69	0,86
Primavera 2019	0-10	0,05	0,58	0,25	0,18
	10-20	0,01	1,43	0,35	0,53
Verano 2020	0-10	0,01	3,57	0,37	0,68
	10-20	0,01	2,36	0,38	0,55



Fosfato (PO_4^{3-})

Los resultados se presentan en las figuras 5.1.5-5.16 y cuadro 5. El rango de las estimaciones promedio varió entre $0,52 \pm 0,54 \mu\text{M}$ en otoño en 0-10m en la región de Aysén y $1,70 \pm 0,20$ ó $1,70 \pm 0,48 \mu\text{M}$ en invierno en ambos estratos, respectivamente, en la región de Los Lagos. Los resultados muestran que la media por estación del año, en las tres regiones, muestran que las estimaciones más altas fueron registradas en otoño e invierno, en ambos estratos, en la región de Los Lagos, y que las más bajas fueron observadas en la región de Magallanes. Las concentraciones promedio más bajas fueron registradas en primavera en los Los Lagos y en la región de Magallanes, incluso en esta última ello también ocurrió durante verano, en cambio en la región de Aysén durante primavera mostró las estimaciones más altas registradas en esta región. Una descripción más detallada para este analito se entrega a continuación por región administrativa.

Región Los Lagos

La concentración promedio de fosfato en 0-10m durante otoño 2019, fue de $1,37 \pm 0,41 \mu\text{M}$, el máximo 1,94 en Yates (L02), y el mínimo en Ayacara (L10) con $0,65 \mu\text{M}$. En invierno, se registró una media de $1,70 \pm 0,20 \mu\text{M}$, el máximo en Isla Quehui (L12) con $1,99 \mu\text{M}$ y el mínimo 1,14 en Isla Caicura (L06N1). Para primavera el promedio fue de $0,58 \pm 0,23 \mu\text{M}$, el máximo 1,27 en Butachauques (L09) y el mínimo $0,20 \mu\text{M}$ en Yates. Durante verano, el promedio fue de $1,04 \pm 0,60 \mu\text{M}$, el máximo se registró en Isla Caicura (L06N1) con 2,24 y el mínimo fue de $0,08 \mu\text{M}$ en Canal Caucahué (L07).

En otoño 2019 el estrato 10-20m, la máxima concentración fue $2,42 \mu\text{M}$ en Yates (L02), y el mínimo $0,86 \mu\text{M}$ en Paso Nao (L06N2), el promedio para la región fue de $1,64 \pm 0,43 \mu\text{M}$. En invierno la media de $1,70 \pm 0,48 \mu\text{M}$, con un máximo en Yates (L02) con $2,21 \mu\text{M}$, y un mínimo en Metri (L01) con $0,25 \mu\text{M}$. Para primavera el promedio fue de $0,59 \pm 0,42 \mu\text{M}$, el máximo ocurrió en Butachauques (L09) con $2,02 \mu\text{M}$ y el mínimo fue de $0,24 \mu\text{M}$ en Chaulinec (L13). En verano, el promedio fue de $1,49 \pm 0,52 \mu\text{M}$, la máxima concentración fue de 2,58 en Yates (L02) y la mínima en Hueihue (L06) con $0,24 \mu\text{M}$ (Figura 5.1.4).

Región de Aysén

La concentración promedio para 0-10m durante otoño 2019 fue de $0,52 \pm 0,54 \mu\text{M}$, el mínimo fue de $0,03 \mu\text{M}$ en Islote Porvenir (A62) y el máximo $2,19 \mu\text{M}$ en Canal Tuamapu (A03N1). Durante invierno el promedio fue de $0,76 \pm 0,50 \mu\text{M}$, el máximo $1,93 \mu\text{M}$ se registró en Isla García (A34) y el mínimo fue de $0,14 \mu\text{M}$ en Islote Porvenir (A62). Para primavera el promedio fue de $1,08 \pm 0,50 \mu\text{M}$, el máximo fue de $2,09 \mu\text{M}$ en Canal Moraleda (A35N1) y el mínimo de $0,11 \mu\text{M}$ en Isla Roja (A54). En verano, el promedio fue de $0,68 \pm 0,47 \mu\text{M}$, el máximo se registró en Puerto Barrientos (A03) con $2,36 \mu\text{M}$ y el mínimo en Seno Ventisquero (A19N2) con $0,09 \mu\text{M}$.

Para 10-20m el promedio durante otoño 2019 fue de $0,58 \pm 0,53 \mu\text{M}$, el mínimo de $0,04 \mu\text{M}$ en Islote Porvenir (A62) y el máximo de $2,09 \mu\text{M}$ en Playa Corta (A08N2). Durante invierno el promedio fue de $0,75 \pm 0,52 \mu\text{M}$, el máximo de $2,17 \mu\text{M}$ en Isla García (A34) y el mínimo de $0,08 \mu\text{M}$ en Canal Tuamapu (A03N1). Para primavera la concentración promedio fue de $1,13 \pm 0,60 \mu\text{M}$, el máximo de $2,21 \mu\text{M}$ en Canal Ninualac (A41) y el mínimo $0,10 \mu\text{M}$ en Canal Darwin (A49). En verano, el promedio fue $0,98 \mu\text{M}$, el máximo se registró en Colonia Grande (A52) con $3,20 \mu\text{M}$ y el mínimo en Isla Canquenes (A26) con $0,01 \mu\text{M}$.



Cuadro 5. M3nimos, m3ximos, promedios y desviaci3n est3ndar de las concentraciones de fosfato para los estratos 0-10m y 10-20m, en oto3o, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Datos en μM .

Regi3n de Los Lagos					
Fosfato	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	0,00	1,94	1,37	0,41
	10-20	0,86	2,42	1,64	0,43
Invierno 2019	0-10	1,14	1,99	1,70	0,20
	10-20	0,25	2,21	1,70	0,48
Primavera 2019	0-10	0,20	1,27	0,58	0,23
	10-20	0,01	2,02	0,59	0,42
Verano 2020	0-10	0,08	2,24	1,04	0,60
	10-20	0,24	2,58	1,49	0,52
Regi3n de Ays3n					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	0,03	2,19	0,52	0,54
	10-20	0,04	2,09	0,58	0,53
Invierno 2019	0-10	0,14	1,93	0,76	0,50
	10-20	0,01	2,17	0,75	0,52
Primavera 2019	0-10	0,11	2,09	1,08	0,50
	10-20	0,10	2,21	1,13	0,60
Verano 2020	0-10	0,09	2,36	0,68	0,47
	10-20	0,01	3,20	0,98	0,76
Regi3n de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	0,12	2,78	0,58	0,64
	10-20	0,00	2,74	0,81	0,77
Invierno 2019	0-10	0,10	3,16	0,68	0,79
	10-20	0,13	3,13	0,96	0,93
Primavera 2019	0-10	0,02	2,58	0,44	0,52
	10-20	0,08	2,78	0,40	0,39
Verano 2020	0-10	0,05	1,44	0,32	0,25
	10-20	0,01	1,36	0,45	0,30

Regi3n de Magallanes

El promedio de 0-10m durante oto3o 2019 fue de $0,58 \pm 0,64 \mu\text{M}$; el m3nimo de $0,12 \mu\text{M}$ en Isla Morton (M01N) y el m3ximo en Isla Piazzzi (M16) con $2,78 \mu\text{M}$. Durante invierno el promedio fue de $0,68 \pm 0,79 \mu\text{M}$, el m3ximo fue $3,16 \mu\text{M}$ en Isla Larga (M20) y el m3nimo de $0,10 \mu\text{M}$ en Isla Engelfield (A29N1). Para primavera el promedio fue de $0,44 \pm 0,52 \mu\text{M}$, el m3nimo de $0,02 \mu\text{M}$ en Cabo San Isidro (M35) y el m3ximo de $2,58 \mu\text{M}$ en Puerto Zenteno (M39). En verano, el promedio fue de $0,32 \pm 0,25 \mu\text{M}$, el m3ximo se registr3 en Canal Adalberto (M04) con $1,44 \mu\text{M}$ y el m3nimo en Isla Piazzzi (M16) con $0,05 \mu\text{M}$.



En otoño 2019 el estrato 10-20m registr3 la m3xima concentraci3n en Puerto Zenteno (M39) con 2,74 uM, el m3nimo ocurri3 en Isla Vancouver (M15) con 0,01 uM, el promedio fue de $0,81 \pm 0,77$ uM. Para invierno el promedio fue de $0,96 \pm 0,93$ uM, con un m3ximo en Ventisquero Holanda (M42) con 3,13 uM, el m3nimo se registr3 en Santa Mar3a (M39N5) con 0,13 uM. Para primavera el promedio fue de $0,40 \pm 0,39$ uM, el m3ximo se registr3 en Isla Engelfield (M29N1) con 2,78 uM y el m3nimo fue de 0,08 uM en Rio Douglas (M44N1). En verano, el promedio fue de $0,45 \pm 0,30$ uM, el m3ximo fue 1,36 uM en Isla Larga (M20) y el m3nimo 0,01 uM en Dalmacia (M39N4).

Silicato (Si (OH)₄)

Los resultados se presentan en las figuras 5.1.7 y 5.1.8 y cuadro 6. El rango de las concentraciones promedio vari3 entre $2,05 \pm 1,76$ uM registrado en otoño en el estrato 10-20m en la regi3n de Magallanes y $17,51 \pm 8,92$ uM en invierno en el estrato 0-10m en Los Lagos. Las concentraciones promedio m3s bajas de este analito, fueron observadas en la regi3n de Magallanes en las cuatro estaciones del año. La regi3n de Los Lagos present3 las concentraciones promedio m3s altas, en ambos estratos. A continuaci3n, se entrega una descripci3n m3s detallada por regi3n administrativa de los resultados logrados para este analito.

Regi3n Los Lagos

El promedio para el estrato de 0-10m durante otoño 2019 fue de $12,68 \pm 8,72$ uM, el m3nimo fue de 0,72 uM en Dalcahue (L11) y el m3ximo en Butachauques (L09) con 57,75 uM. Durante invierno la concentraci3n promedio fue de $17,51 \pm 8,92$ uM, el m3ximo fue de 45,34 en Calbuco (L04) y el m3nimo 4,66 en Isla Chaulinec (L13). Para primavera la concentraci3n promedio fue de $14,03 \pm 10,57$, el m3ximo fue de 46,70 en Isla Caicura (L06N1) y el m3nimo de 1,13 uM en Metri (L01). En verano el promedio fue de $9,19 \pm 16,14$ uM, el m3ximo se registr3 en Cocham3 (L02N2) con 64,04 uM y el m3nimo en Paso Nao (L06N2) con 0.15 uM.

La concentraci3n promedio para el estrato de 10-20m en Los Lagos durante otoño 2019 fue de $15,04 \pm 10,84$ uM, el m3nimo fue de 1,83 uM en Isla Quehui (L12) y el m3ximo 53,86 uM en la Isla Acui (L16). Durante invierno el promedio fue de $12,48 \pm 12,16$ uM, el m3ximo fue de 52,84 en Auchem3 (L17) y el m3nimo fue de 0,02 en la Isla Quehui (L12). Para primavera la concentraci3n promedio fue de $11,49 \pm 5,03$ uM, el m3ximo fue de 20,36 en Hueihue (L06) y el m3nimo de 0,10 uM en Metri (L01). En verano el valor promedio fue de $6,38 \pm 6,22$ uM, el m3ximo se registr3 en Cochamo (L02N2) con 28,63 uM y el m3nimo en Ayacara (L10) con 0,10 uM.

Regi3n de Ays3n

El promedio de silicato para 0-10m en otoño 2019 fue $9,59 \pm 11,04$ uM, el m3nimo de 0,03 uM en Islote Porvenir (A62) y el m3ximo 57,75 uM en Isla Francisco (A35N3). Durante invierno la media fue $12,05 \pm 9,71$ uM, el m3ximo 40,49 uM en Isla Francisco (A35N3) y el m3nimo 0,08 uM en Colonia Grande (A52). Para primavera la media en 0-10m fue $5,67 \pm 4,62$ uM, el m3ximo fue 16,36 uM en Colonia Grande (A52) y el m3nimo 0,02 uM en Isla Isquiliac (A49N1). En verano, el promedio fue $4,51 \pm 2,35$ uM, el m3ximo 9,87 uM en Puerto Barrientos (A03) y el m3nimo 0,15 uM en Uspallante (A20N1).



Cuadro 6. M3nimos, m3ximos, promedios y desviaci3n est3ndar de las concentraciones de silicato para los estratos 0-10m y 10-20m, en oto3o, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Datos en μM .

Regi3n de Los Lagos					
Silicato	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	0,72	57,75	12,68	8,72
	10-20	1,83	53,86	15,04	10,84
Invierno 2019	0-10	4,66	45,34	17,51	8,92
	10-20	0,02	52,84	12,48	12,16
Primavera 2019	0-10	1,13	46,70	14,03	10,57
	10-20	1,08	20,36	11,49	5,03
Verano 2020	0-10	0,15	64,04	9,19	16,14
	10-20	0,10	28,63	6,38	6,22
Regi3n de Ays3n					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	0,03	57,75	9,59	11,04
	10-20	0,20	58,90	9,27	9,40
Invierno 2019	0-10	0,08	40,49	12,05	9,71
	10-20	0,02	45,34	10,29	8,89
Primavera 2019	0-10	0,02	16,36	5,67	4,62
	10-20	0,07	14,93	5,00	3,95
Verano 2020	0-10	0,15	9,87	4,51	2,35
	10-20	0,17	16,31	4,61	3,70
Regi3n de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	0,02	15,98	2,40	3,52
	10-20	0,02	7,09	2,05	1,76
Invierno 2019	0-10	0,02	19,97	5,06	4,72
	10-20	0,12	12,43	4,69	3,47
Primavera 2019	0-10	0,02	15,81	2,95	4,04
	10-20	0,03	28,16	4,24	6,64
Verano 2020	0-10	0,05	41,53	6,39	8,94
	10-20	0,12	15,84	3,68	3,97

Para el estrato 10-20m en el oto3o 2019, el m3ximo fue de 58,90 μM en Isla Francisco (A35N3), y el m3nimo en Canal Pilcomayo (A42) con 0,20 μM , el promedio para oto3o fue de $9,27 \pm 9,40$ μM . Para invierno, el promedio fue de $10,29 \pm 8,89$ μM , con un m3ximo en Isla Manuel (A15) con 45,34 μM , el m3nimo se registr3 en Isla Ipun con 0,02 μM . Para primavera el promedio fue de $5,00 \pm 3,95$ μM , el m3ximo se registr3 en Canal Pilcomayo (A42) con 14,93 μM y el m3nimo 0,45 μM en Isla Orestes (A23). En verano, el promedio fue de $4,61 \pm 3,70$ μM , el m3ximo fue 16,31 μM en Canal Moraleda (A35N1) y el m3nimo en Isla Isquiliac (A49N1) con 0,17 μM .



Regi3n de Magallanes

El promedio para 0-10m durante otoi1o 2019 fue de $2,40\pm3,52$ uM, el m3nimo fue de 0,02 uM en Cutter Cuve (M29) y el m3ximo 15,98 uM en Segunda Angostura (M39N1). Durante invierno la media fue de $5,06\pm4,72$ uM, el m3ximo fue 19,97 uM en Dalmacia (M39N4) y el m3nimo 0,02 uM en Isla Topar (M11). Para primavera el promedio fue de 2,95 uM, el m3ximo fue de 15,81 uM en Canal Adalberto (M04), el m3nimo fue 0,02 uM en Rio Douglas (M44N1). En verano el promedio fue $6,39\pm8,94$ uM, el m3ximo se registr3 en Isla Morton (M01N) con 41,53 uM y el m3nimo en Isla Larga (M20) con 0,05 uM.

La media para el estrato de 10-20m durante otoi1o 2019 fue de $2,05\pm1,76$ uM, el m3nimo fue de 0,02 uM en Isla Vancouver (M15) y el m3ximo en Ventisquero Holanda (M42) con 7,09 uM. Durante invierno la concentraci3n promedio fue de $4,69\pm3,47$ uM, el m3ximo fue de 12,43 en Santa Mar3a (M39N5) y el m3nimo de 0,12 en Isla Morton (M01N). Para primavera el promedio fue de $4,24\pm6,64$ uM, el m3ximo de 28,16 uM en Bah3a Libertad (M05) y el m3nimo de 0,03 uM en Estero Olga (M40N1). En verano el promedio fue $3,68\pm3,97$ uM, el m3ximo se registr3 en Isla Figueroa (M12) con 15,84 uM y el m3nimo 0,12 uM en Isla Morton (M01N1).

Temperatura (°C)

Los resultados se presentan en las figuras 5.1.9 - 5.1.10 y cuadro 7. Las temperaturas promedio muestran una declinaci3n con la latitud, siendo las m3s altas en la regi3n de Los Lagos y las m3s bajas en la regi3n de Magallanes. El rango de las temperaturas promedio vari3 entre $6,97^{\circ}\pm0,88$ en el estrato 0-10m en la regi3n de Magallanes y $13,43^{\circ}\pm1,41$ en el mismo estrato para el per3odo de verano, en la regi3n Los Lagos. En todas las regiones los registros promedio m3s altos ocurrieron en la estaci3n de verano, periodo en que adem3s se advierten temperaturas m3s bajas m3nimas y m3ximas en el estrato de 10-20m, ya que para las otras estaciones del a1o ello no siempre es as3. A continuaci3n, se entrega una s3ntesis del comportamiento de la temperatura en cada una de las regiones administrativas consideradas.

Regi3n Los Lagos

La temperatura promedio del estrato 0-10m en otoi1o fue de $11,94\pm0,91$ °C, con un m3nimo de 10,67 °C (L16N1) y un m3ximo de 14,29 °C (L02N2). Para invierno, el promedio fue de $10,38\pm0,35$ °C, con un m3ximo de 11,08 °C (L09) y un m3nimo de 9,71 °C (L04N2). En primavera la temperatura promedio fue de $11,34\pm1,07$ °C, con un m3nimo de 9,87 °C (L10N3) y un m3ximo de 15,26 °C (L06). Para verano, el promedio fue de $13,43\pm1,41$ °C con un m3nimo de 11,36 °C (L14) y un m3ximo de 16,68 °C (L02N4).

Para otoi1o en el estrato 10-20m, el promedio fue de $11,62\pm0,54$ °C, con un m3nimo de 10,64 °C (L23N1) y un m3ximo de 13,01 °C (L11). Para invierno el promedio fue de $10,63\pm0,36$ °C, con un m3nimo de 9,83 °C (L25N1) y un m3ximo de 11,35 °C (L01). Para primavera, el promedio fue de $10,98\pm0,68$ °C, el m3nimo de 9,93 °C (L23N1) y el m3ximo de 13,42 °C (L06). En verano, el promedio fue de $12,50\pm0,80$ °C con un m3ximo de 14,64 °C (L04N2) y un m3nimo de 10,84 °C (L22N1).



Regi3n de Ays3n

Para el estrato 0-10m el promedio en oto3o fue de $11,59 \pm 0,67$ °C, con un m3nimo de 10,32°C (A03N1) y un m3ximo de 12,58°C (A62). En invierno, el promedio fue de $9,65 \pm 0,78$ °C, el m3nimo fue 6,64°C (A60) y el m3ximo 11,05°C (A49N1). Para primavera, el promedio fue de $10,23 \pm 1,00$ °C, el m3nimo de 8,98°C (A50) y el m3ximo de 13,56°C (A16N1). En verano, el promedio fue de $12,79 \pm 0,95$ °C y un m3ximo de 15,94°C (A19N1) y un m3nimo de 10,97 °C (A59).

Cuadro 7. M3nimos, m3ximos, promedios y desviaci3n est3ndar de la temperatura para los estratos 0-10m y 10-20m, en oto3o, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Datos en °C.

Regi3n de Los Lagos					
Temperatura	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Oto3o 2019	0-10	10,67	14,29	11,94	0,91
	10-20	10,64	13,01	11,62	0,54
Invierno 2019	0-10	9,71	11,08	10,38	0,35
	10-20	9,88	11,35	10,63	0,36
Primavera 2019	0-10	9,87	15,26	11,34	1,07
	10-20	9,93	13,42	10,98	0,68
Verano 2020	0-10	11,36	16,68	13,43	1,41
	10-20	10,84	14,64	12,50	0,80
Regi3n de Ays3n					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Oto3o 2019	0-10	10,32	13,16	11,59	0,67
	10-20	10,32	12,58	11,43	0,42
Invierno 2019	0-10	6,64	11,05	9,65	0,78
	10-20	8,51	11,42	10,07	0,52
Primavera 2019	0-10	8,48	13,56	10,23	1,00
	10-20	8,98	12,35	10,08	0,65
Verano 2020	0-10	10,97	15,94	12,79	0,95
	10-20	9,70	13,64	11,95	0,66
Regi3n de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Oto3o 2019	0-10	6,19	10,60	8,68	0,97
	10-20	6,32	10,87	8,72	0,83
Invierno 2019	0-10	3,96	9,04	6,97	0,88
	10-20	4,66	10,13	7,49	1,18
Primavera 2019	0-10	5,37	10,90	7,72	1,29
	10-20	5,38	10,17	7,54	0,94
Verano 2020	0-10	8,10	12,24	9,88	1,06
	10-20	7,91	11,95	9,34	0,85

Para el estrato 10-20m el promedio en oto3o fue de $11,43 \pm 0,42$ °C, con un m3nimo de 10,32°C (A03N1) y un m3ximo de 12,58°C (A44). En invierno el promedio fue de $10,07 \pm 0,52$ °C, con un m3ximo de



11,42°C (A48) y un mínimo de 8,51°C (A20N1). En primavera el máximo fue de 12,35°C (A16N1), el mínimo de 8,99°C (A62) y el promedio de 10,08±0,65°C. Durante verano el promedio fue de 11,95°C y el máximo de 13,64°C (A18N2) y un mínimo de 9,70°C (A59).

Región de Magallanes

Para el estrato 0-10m el promedio de temperatura en otoño fue de 8,68±0,97°C, el mínimo de 6,19°C (M41) y el máximo de 10,60 °C (M24N2). En invierno el promedio fue de 6,97±0,88°C, el máximo para fue de 9,04°C (M04), y el mínimo de 3,96°C (M40). Para primavera el promedio fue de 7,72°C, el mínimo de 5,37°C (M23) y el máximo de 10,90°C (M05). Para verano el promedio fue de 9,88±1,06 °C, el máximo de 12,24°C (M11) y el mínimo de 8,10°C (M26).

Para el estrato 10-20m en otoño el promedio fue de 8,72±0,83°C, el máximo de 10,87°C (M46N1) y el mínimo de 6,32°C (M05). Para invierno el promedio fue de 7,49 °C, el mínimo fue de 4,66°C (M41) y el máximo 10,13°C (M04). Para primavera el promedio fue de 7,54±0,94 °C, con un mínimo de 5,38 °C (M45) y un máximo de 10,17°C (M05). En verano el promedio fue de 9,34±0,85°C y el mínimo fue de 7,91°C (M33) con un máximo de 11,95°C(M11).

Salinidad

Los resultados se presentan en las figuras 5.1.11 – 5.1.12 y cuadro 8. El rango para la salinidad promedio varió entre 26,73±4,04 PSU en el verano en el estrato 0-10m en la región de Magallanes y 32,71±0,63 PSU en otoño en el estrato 10-20m en la región de Los Lagos. No obstante que los registros máximos de la salinidad fueron estimaciones sobre 33 PSU, en general las estimaciones de la salinidad muestran la condición estuarina del área de estudio. Ello es evidente de los registros mínimos que variaron entre 10,71 en invierno en el estrato 0-10 en la región de Los Lagos y en la misma región se observó la estimación mínima más alta, 30,93 PSU en el estrato de 10-20m. Los resultados muestran que en todas las regiones, en todas las estaciones del año, las estimaciones de salinidad fueron mayores en el estrato de 10-20m. A continuación, se entrega con mayor detalle el comportamiento de esta variable en el área de estudio.

Región de Los Lagos

Para el estrato 0-10m el promedio de salinidad en otoño fue de 31,17±3,10 PSU, el mínimo de 23,83 PSU (L02) y el máximo de 33,80 PSU (L22N3). En invierno el promedio fue de 30,50±3,76 PSU, el máximo fue de 33,20 PSU (L12) y el mínimo de 10,71 PSU (L02N4). Para primavera el promedio fue de 30,16±4,38 PSU, el mínimo de 12,42 PSU (L02N4) y el máximo de 33,48 PSU (L23N1). Para verano el promedio fue de 30,03±5,07 PSU, el máximo de 33,66 PSU (L12) y el mínimo de 14,08 PSU (L02N2). Para el estrato 10-20m en otoño el promedio fue de 32,71±0,63 PSU, el máximo de 33,80 PSU (L22N2) y el mínimo de 30,88 PSU (L06N2). Para el invierno el promedio de salinidad fue de 32,21±0,63 PSU, el mínimo fue de 11,16 PSU (L04N2) y el máximo 33,20 PSU (L12). Para primavera el promedio fue de 32,47±0,54 PSU, con un mínimo de 30,43 PSU (L10N3) y un máximo de 33,67 PSU (L22N1). En verano el promedio fue de 32,43±0,74 PSU y el mínimo fue de 30,65 PSU (L02N4) con un máximo de 33,67 PSU (L22N1).

**Regi3n de Ays3n**

Para el estrato 0-10m el promedio de salinidad en otoño fue de $29,27 \pm 3,20$ PSU, con un m3nimo de 16,81 PSU (A62) y un m3ximo de 33,32 PSU (A03). En invierno, el promedio fue de $28,83 \pm 3,07$ PSU, el m3nimo fue 19,50 PSU (A60) y el m3ximo 33,03 PSU (A01). Para primavera, el promedio fue de $29,16 \pm 2,76$ PSU, el m3nimo de 20,21 PSU (A60) y el m3ximo de 33,24 PSU (A03). En verano, el promedio fue de $27,83 \pm 3,52$ PSU y un m3ximo de 16,43 (A03N1) y un m3nimo de 33,02 PSU (A60).

Cuadro 8. M3nimos, m3ximos, promedios y desviaci3n de la salinidad para los estratos 0-10m y 10-20m, en otoño, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Datos en PSU.

Regi3n de Los Lagos					
Salinidad	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Otoño 2019	0-10	23,83	33,80	31,17	3,10
	10-20	30,88	33,80	32,71	0,63
Invierno 2019	0-10	10,71	33,20	30,50	3,76
	10-20	11,16	33,20	32,21	2,39
Primavera 2019	0-10	12,42	33,48	30,16	4,38
	10-20	30,93	33,51	32,47	0,54
Verano 2020	0-10	14,08	33,66	30,03	5,07
	10-20	30,65	33,67	32,43	0,74
Regi3n de Ays3n					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Otoño 2019	0-10	16,81	33,32	29,27	3,20
	10-20	28,60	33,40	31,22	1,25
Invierno 2019	0-10	19,50	33,03	28,83	3,07
	10-20	27,45	33,14	30,84	1,21
Primavera 2019	0-10	20,21	33,24	29,16	2,76
	10-20	27,23	33,38	30,83	1,44
Verano 2020	0-10	16,43	33,02	27,83	3,52
	10-20	26,58	33,41	30,44	1,61
Regi3n de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Otoño 2019	0-10	15,00	32,28	27,03	3,19
	10-20	17,68	32,38	29,21	2,32
Invierno 2019	0-10	16,56	31,87	28,41	2,81
	10-20	18,21	31,92	29,83	2,07
Primavera 2019	0-10	18,29	31,83	28,85	2,42
	10-20	19,62	32,00	30,21	1,57
Verano 2020	0-10	12,62	31,10	26,73	4,04
	10-20	18,68	31,19	29,14	2,46



Para el estrato 10-20m en otoño el promedio fue de $31,22 \pm 1,25$ PSU, con un mínimo de 28,60 PSU (A20N1) y un máximo de 33,40 PSU (A03). En invierno, el promedio fue $30,84 \pm 1,21$ PSU, con un máximo de 33,14 PSU (A01) y un mínimo de 27,45 PSU (A20N1). En primavera el máximo fue de 33,38 PSU (A03), el mínimo de 27,23 PSU (A19N2) y un promedio de $30,83 \pm 1,44$ PSU. Durante verano el promedio fue de $30,44 \pm 1,61$ PSU y un máximo de 33,41 (A03N1) y un mínimo de 26,58 PSU (A28).

Región de Magallanes

La salinidad promedio del estrato 0-10m en otoño fue de $27,03 \pm 3,19$ PSU, con un mínimo de 15,00 (M23) y un máximo de 32,28 PSU (A03). Para invierno, el promedio fue de $28,41 \pm 2,81$ PSU, con un máximo de 31,87 (M46) y un mínimo de 16,56 PSU (M23). En primavera la salinidad promedio fue de $28,85 \pm 2,42$ PSU, con un mínimo de 18,29 (M23) y un máximo de 31,83 PSU (M44N1). Para verano, el promedio fue de $26,73 \pm 4,04$ PSU con un mínimo de 12,62 (M05) y un máximo de 31,10 PSU (M32).

Para otoño en el estrato 10-20m, el promedio fue de $29,21 \pm 2,32$ PSU con un mínimo de 17,68 PSU (M23) y un máximo de 32,38 PSU (M46). Para invierno el promedio fue de $29,83 \pm 2,07$ PSU, con un mínimo de 18,21 PSU (M23) y un máximo de 31,92 PSU (M46). Para primavera, el promedio fue de $30,21 \pm 1,57$ PSU, el mínimo de 19,62 (M23) y el máximo de 32,00 PSU (M46). En verano, el promedio fue de $29,14 \pm 2,46$ PSU con un máximo de 31,19 PSU (M44N1) y un mínimo de 18,68 PSU (M23).

Densidad

Los resultados se presentan en las figuras 5.1.13 – 5.1.14 y cuadro 9. Las estimaciones muestran para todas las regiones y las distintas estaciones del año que la densidad es función de la salinidad, el rango de las estimaciones promedio varió entre $20,55 \pm 3,27$ kg/m³ en verano para el estrato 0-10m en la región de Magallanes y $24,94 \pm 0,55$ y $24,94 \pm 0,45$ kg/m³ registrados en otoño e invierno, respectivamente, ambos en el estrato de 10-20m en la región de Los Lagos. A continuación, se entrega el comportamiento de esta variable para cada región administrativa considerada.

Región de Los Lagos

Para el estrato 0-10m el promedio de densidad en otoño para la región de Los Lagos fue de $23,65 \pm 2,49$ kg/m³, con un mínimo de 17,60 kg/m³ (L02N1) y un máximo de 25,82 kg/m³ (L23N1). En invierno, el promedio fue de $23,51 \pm 2,48$ kg/m³, el mínimo fue 16,69 kg/m³ (L02N4) y el máximo 25,48 kg/m³ (L12). Para primavera, el promedio fue de $22,84 \pm 3,71$ kg/m³, el mínimo de 7,62 kg/m³ (L05) y un máximo de 25,70 kg/m³ (L23N1). En verano, el promedio fue de $22,49 \pm 4,08$ kg/m³ y un máximo de 25,51 (L17N2) y un mínimo de 9,86 kg/m³ (L02N2).

Para el estrato 10-20m en otoño el promedio fue de $24,94 \pm 0,55$ kg/m³, con un mínimo de 23,31 (L06N1) y un máximo de 25,88 kg/m³ (L23N1). En invierno, el promedio fue de $23,51 \pm 2,48$ kg/m³, con un máximo de 25,48 (L16) y un mínimo de 16,69 kg/m³ (L10N3). En primavera el máximo fue de 25,79, el mínimo de 8,07 kg/m³ (L05) y el promedio de $24,75 \pm 1,55$ kg/m³ (L23N1). Durante el verano el promedio fue de $24,55 \pm 0,67$ kg/m³, un máximo de 25,81 (L22N1) y un mínimo de 22,98 kg/m³ (L02N4).

**Regi3n de Ays3n**

Para el estrato 0-10m en oto3o el promedio fue de $22,24 \pm 2,53 \text{ kg/m}^3$, con un m3nimo de 12,39 (A62) y un m3ximo de $25,59 \text{ kg/m}^3$ (A03). En invierno, el promedio fue de $22,21 \pm 2,29 \text{ kg/m}^3$, con un m3ximo de 25,48 (A03) y un m3nimo de $15,03 \text{ kg/m}^3$ (A24). En primavera el m3ximo fue de $22,38 \text{ kg/m}^3$, el m3nimo de 15,40 (A24) y un promedio de $22,38 \pm 2,18 \text{ kg/m}^3$ (A03N1). Durante verano el promedio fue de $20,91 \pm 2,78 \text{ kg/m}^3$, un m3ximo de 12,17 (A60) y un m3nimo de $25,06 \text{ kg/m}^3$ (A03N1).

Cuadro 9. M3nimos, m3ximos, promedios y desviaci3n est3ndar de la densidad para los estratos 0-10m y 10-20m, en oto3o, invierno, primavera y verano, para las regiones de Los Lagos, Ays3n y Magallanes. Datos en kg/m^3 .

Regi3n de Los Lagos					
Densidad	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	17,60	25,82	23,65	2,49
	10-20	23,31	25,88	24,94	0,55
Invierno 2019	0-10	16,69	25,48	23,51	2,48
	10-20	23,52	25,57	24,94	0,45
Primavera 2019	0-10	7,62	25,70	22,84	3,71
	10-20	8,07	25,79	24,75	1,55
Verano 2020	0-10	9,86	25,51	22,49	4,08
	10-20	22,98	25,81	24,55	0,67
Regi3n de Ays3n					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	12,39	25,59	22,24	2,53
	10-20	21,65	25,71	23,83	1,01
Invierno 2019	0-10	15,03	25,48	22,21	2,29
	10-20	21,28	25,57	23,74	0,97
Primavera 2019	0-10	15,40	25,54	22,38	2,18
	10-20	20,66	25,70	23,75	1,12
Verano 2020	0-10	12,17	25,06	20,91	2,78
	10-20	20,12	25,46	23,13	1,24
Regi3n de Magallanes					
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	Sd
Oto3o 2019	0-10	11,70	25,30	20,93	2,55
	10-20	13,69	25,42	22,67	1,84
Invierno 2019	0-10	12,98	25,17	22,25	2,24
	10-20	14,18	25,28	23,33	1,65
Primavera 2019	0-10	14,14	25,13	22,51	1,99
	10-20	15,51	25,26	23,64	1,26
Verano 2020	0-10	9,28	24,14	20,55	3,27
	10-20	14,19	24,31	22,55	2,01

Para el estrato 10-20m el promedio en oto3o fue de $23,83 \pm 1,01 \text{ kg/m}^3$, con un m3nimo de 21,65 (A20N1) y un m3ximo de $25,71 \text{ kg/m}^3$ (A03). En invierno, el promedio fue de $23,74 \pm 0,97 \text{ kg/m}^3$, el m3nimo 21,28



(A20N1) y el m3ximo 25,57 kg/m³ (A01). Para primavera, el promedio fue de 23,75±1,12 kg/m³, el m3nimo de 20,66 (A16N1) y el m3ximo 25,70 kg/m³ (A03N1).. En verano, el promedio fue de 23.13±1,24 kg/m³, el m3ximo de 25,46 (A03N1) y el m3nimo de 20,12 kg/m³ (A28).

Regi3n de Magallanes

Para el estrato 0-10m el promedio en otoi1o fue de 20,93±2,55 kg/m³, con un m3nimo de 11,70 kg/m³ (M23) y un m3ximo de 25,30 kg/m³ (M46). En invierno el promedio fue de 22,25±2,24 kg/m³, con un m3ximo de 25,17 (M46) y un m3nimo de 12,98 kg/m³ (M23). En primavera el m3ximo fue de 25,13 kg/m³ (M44N1), el m3nimo de 14,14 kg/m³ (M23) y un promedio de 22,51±1,99 kg/m³. Durante verano el promedio fue de 20,55±3,27 kg/m³ y un m3ximo de 24,14 (M44) y un m3nimo de 9,28 kg/m³ (M05).

Para el estrato 10-20m el promedio de densidad en otoi1o fue de 22,67±1,84 kg/m³, con un m3nimo de 13,69 (M23) y un m3ximo de 25,42 kg/m³ (M44N1). En invierno el promedio fue de 23,33±1,65 kg/m³, el m3nimo fue 4,18 kg/m³ (M23) y el m3ximo de 25,28 kg/m³ (M46). Para primavera, el promedio fue de 23,64±1,26 kg/m³, el m3nimo de 15,51 (M23) y el m3ximo de 25,26 kg/m³ (M44N1). En verano, el promedio fue de 22,55±2,01 kg/m³, un m3ximo de 24,31 (M26) y un m3nimo de 14,19 kg/m³ (M23).

Actividad 5 (adicional). Recolectar quistes de dinoflagelados en sedimentos superficiales de sitios selectos de las 3 regiones.

En esta etapa, el an3lisis de 22 muestras de sedimento recolectadas desde las tres regiones administrativas estudiadas en este programa, permiti3o identificar un total de 38 tipos de quistes distintos (Figs. 5.1.15 – 5.1.16), entre ellos, tres especies reportadas como productoras de toxinas en aguas chilenas, *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum* (Fig. 5.1.15 A-C). Del total de muestras analizadas, el 100% de ellas fueron positivas para presencia de quistes de dinoflagelados. Desde un punto de vista taxon3mico, se identificaron y documentaron especies de los g3neros *Alexandrium*, *Protoceratium*, *Spiniferites*, *Pentapharsodinium*, *Scrippsiella*, *Gyrodinium*, *Archaeperidinium*, *Protopteridinium*, *Polykrikos*, *Preperidinium* y *Niea*. Quistes de *Gyrodinium undulans* se registran por primera vez en sedimentos del sur de Chile. Quistes que no pudieron ser identificados de acuerdo a sus caracter3sticas morfol3gicas y a la ausencia de 3stos en publicaciones cient3ficas, fueron registrados como quistes No identificados (Fig. 5.1.16 M-S). Cualitativamente hablando, el g3nero de dinoflagelado que present3 mayor n3mero de especies correspondi3 a *Protopteridinium*, con 12 especies registradas (*P. americanum*, *P. avellana*, *P. claudicans*, *P. conicoide*, *P. conicum*, *P. denticulatum*, *P. excentricum*, *P. leonis*, *P. pentagonum*, *P. thorianum*, *P. subinermis*, *P. tricingulatum*). Adicionalmente, dos tipos de quistes distintos (*Protopteridinium* sp. 3 y *Protopteridinium* sp. 4) fueron agrupadas dentro del mismo g3nero dada su morfolog3a. Tambi3n, quistes con una forma redonda y de color caf3 (Fig. 5.1.16 L) que suelen pertenecer a *Protopteridinium*, pero que no presentaron un arqueopilo que pudiera permitir su identificaci3n, fueron agrupados como *Protopteridinium* spp. Quistes que tienen 3sta morfolog3a podr3an corresponder a las especies *P. thorianum*, *P. denticulatum*, *P. punctulatum* y *P. avellana* las cuales presentan arqueopilos distintos (comparar Figs. 5.1.15 N, R, y 5.1.16 E).



Cuantitativamente, el análisis de las muestras de las tres regiones arrojó 7620 quistes (Los Lagos: 771, Aysén: 2818, Magallanes: 4031), siendo Canal Adalberto (M04) de Magallanes la que presentó la mayor abundancia (770 quistes), y por el contrario, Isla Virginia-Bahía Low (A01) de Aysén la que presentó la menor abundancia (18 quistes). El promedio de quistes por estación de toda el área de estudio fue de 346 quistes. La especie que presentó una mayor cobertura geográfica y mayor abundancia entre las tres regiones fue *P. reticulatum*, registrándose en 19 (86.3%) de las 22 estaciones y con un total de 1148 quistes (Los Lagos: 107, Aysén: 930, Magallanes: 111), seguido por *Protoperidinium* spp., que se registró igualmente en 19 (86.3%) estaciones con una abundancia total de 1058 quistes.

Al analizar por separado cada región (Tablas 1.1 – 1.3), respecto al número de especies registradas, la región de Los Lagos y Aysén presentaron 28 tipos de quistes distintos, mientras que Magallanes, presentó 30 tipos distintos. En relación a las abundancias totales, las estaciones con mayor y menor abundancia de quistes en la región de Los Lagos fueron Bahía Ilque (L04N2, 204 quistes) y Estero Yaldad (L18, 26 quistes); en Aysén, fueron Seno Canalad (A18N2, 741 quistes) e Isla Virginia-Bahía Low (A01, 18 quistes), y en Magallanes, Canal Adalberto (M04, 770 quistes) y Puerto Edén (M06, 221 quistes), respectivamente. Respecto a la especie más abundante, en Los Lagos y Aysén fue *P. reticulatum*, y en Magallanes, *Protoperidinium avellana*.

Al analizar solo la presencia de quistes de especies nocivas por región, en Los Lagos se identificó a *A. catenella* y *P. reticulatum*. *Alexandrium catenella* estuvo presente en dos estaciones (Isla Guapiquilán y Bahía Asasao) con baja abundancia (5 y 4 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh, respectivamente) y *Protoceratium reticulatum* en seis estaciones (Bahía Ilque, Pichicolo, E. Yaldad, I. Guaquiplán, B. Asasao, y B. Tic Toc) alcanzado una abundancia máxima de 70 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh en B. Ilque. Por otro lado, en la región de Aysén se registró la presencia de *A. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*. De acuerdo a la distribución espacial y abundancias de estas especies en la región, *P. reticulatum* alcanzó la mayor cobertura geográfica, siendo registrada en las 8 (100%) estaciones de muestreo, y sus abundancias alcanzaron los valores más altos de todo estudio, esto ocurrió en Seno Canalad (A18N2) y Seno Medio (A18N3) con 456 y 315 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh, respectivamente. En esta misma región, quistes de *A. catenella* fueron registrados en 5 (62.5%) estaciones (Seno Canalad, Seno Medio, Isla Canquenes, Canal Darwin, y Colonia Grande) de las 8 muestreadas, alcanzando abundancias máximas en Seno Canalad y Seno Medio (219 y 107 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh, respectivamente), mientras que en el resto de las estaciones sus abundancias fueron bajas ($\sim$ 20 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh). *Alexandrium ostenfeldii* fue de las tres la especie la que presentó la más baja cobertura y abundancia, siendo identificada solo en Isla Canquenes (A26) con 7 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh.

Al igual que lo ocurrido en Los Lagos, en Magallanes se registraron quistes de las especies *A. catenella* y *P. reticulatum*. De estas especies, *P. reticulatum* fue registrada en 5 (71,4%) estaciones (Canal Adalberto, Caleta Williams, Isla Ballestero, Bahía Cordes, y Bahía Bell) de las 7 muestreadas, aunque con abundancias relativamente bajas (promedio de 22 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh), mientras que *A. catenella* solo fue registrada en Bahía Bell con una abundancia de 13 quistes $\times$ mL⁻¹ de sh.



5.2. Objetivo Específico 2:

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

5.2.1. Modelación *Alexandrium catenella*

En términos generales, el modelo de *A. catenella* ha podido replicar la distribución vertical de la microalga, representando de buena manera la ubicación de la máxima concentración de esta microalga en la columna de agua como se observa en la figura 5.2.1. En la figura, las células de *A. catenella* se registraron en los primeros 30m y el máximo estuvo ubicado entre los 5 y 10m, lo que concuerda con el perfil promedio realizado con datos obtenidos en los muestreos en los canales de Puyuhuapi y Jacaf (Fig. 5.2.2). En cuanto a la distribución horizontal (Fig. 5.2.3), el modelo ha podido representar de manera cualitativa las zonas de acumulación de células, esto debido principalmente a efectos de la circulación.

Modelación de partículas pasivas

En la figura 5.2.4 se observa como las partículas provenientes de la fuente ubicada en isla Viola (A30N1) se dispersaron mayoritariamente hacia el norte del canal Moraleda, lo mismo se observó para las partículas provenientes del canal Darwin (A49), donde una parte de las partículas se dispersaron hacia el norte del canal Moraleda y otra hacia los canales interiores ubicados al oeste de la zona de Aysén, donde se conectó con la fuente de isla Isquiliac (A49N1), sin embargo estas dos últimas fuentes colonizaron los canales interiores de la zona sur de Aysén. Los resultados de la modelación fueron coherentes con los resultados obtenidos de la campaña de diciembre (Fig. 5.2.5), la que se realizó posterior a la modelación.

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

Anclaje Puyuhuapi

La temperatura (Fig. 5.2.6) registrada en el anclaje ubicado en la boca del Puyuhuapi varió entre 8 a 14°C, donde las mayores fluctuaciones se observaron en los primeros 20 metros de la columna de agua con una somerización de la isoterma de 11°. Además, a partir de mediados de diciembre se observó la presencia de temperaturas sobre 12°C, la que tuvo una extensión variable, sin embargo, la máxima extensión (~10m) se observó entre diciembre y enero.

La salinidad (Fig. 5.2.6) registrada varió entre 20 a 33,5, donde las mayores variaciones se ubicaron en los primeros 30 metros, debido a la presencia de agua estuarina; la que se registró durante todo el periodo del registro. Además, se observó una somerización de las isohalinas de 31, 32 y 33, esta última se observó a finales de febrero. Es importante notar que las fluctuaciones de las isohalinas de 31 coincidieron con la isoterma 11°C.



La clorofila a 10m (Fig. 5.2.7) registró valores entre 0 y $\sim 5 \text{ mg L}^{-1}$, donde se observaron 4 máximos que se registraron en diciembre; posteriormente las concentraciones de clorofila disminuyeron. En cuanto a la concentración de *A. catenella* se registraron 3 eventos, los que estuvieron asociados a bajos valores de concentración ($100 \text{ a } 200 \text{ cel. L}^{-1}$) y que coincidieron con nulas concentraciones de clorofila registrada por el sensor.

Las concentraciones de nitrato (Fig. 5.2.8) fluctuaron entre $0.9 \text{ a } 21.1 \text{ } \mu\text{M}$ (promedio $7.0 \pm 5.2 \mu\text{M}$). La máxima concentración se registró en febrero del 2019 y en general se observó una disminución a partir de esta fecha. La concentración de nitrito varió entre $0 \text{ a } 2.8 \mu\text{M}$ (promedio $0.5 \pm 0.6 \mu\text{M}$), no se observó una tendencia acerca de la distribución en la columna de agua ni en el tiempo; sin embargo, los episodios de *A. catenella* estuvieron asociados a bajas concentraciones de nitrito. La concentración de fosfato fluctuó entre $0 \text{ a } 5.3 \mu\text{M}$ (promedio $0.7 \pm 0.9 \mu\text{M}$), las mayores concentraciones se ubicaron bajo los 30 metros. Durante los periodos de otoño e invierno (abril a septiembre) no se registraron valores en toda la columna de agua; en cuanto a los valores de fosfato asociados a los episodios de presencia de *A. catenella* fueron en promedio de $1.5 \mu\text{M}$. En cuanto al silicato las concentraciones variaron entre $\sim 0 \text{ y } 26.7 \mu\text{M}$ (promedio $7.5 \pm 6.0 \mu\text{M}$), el máximo se registró en superficie durante el mes de mayo.

En general, la razón N/P (Fig. 5.2.9) fue mayor a 16 en toda la columna de agua durante los periodos de otoño e invierno del 2019; a diferencia de los registrados durante el periodo de verano 2018, donde se registraron valores mayores a 16.

Anclaje Jacaf

La temperatura registrada en el anclaje de Jacaf (Fig. 5.2.10) vario entre $8.7 \text{ a } 13.5^\circ\text{C}$, las temperaturas más altas ($>11^\circ\text{C}$) se registraron en los primeros 20m durante el verano del 2019 al igual que las más bajas ubicándose en los 150 metros de profundidad.

Durante el registro se observó una estacionalidad de la isoterma de 10°C , sin embargo, este mostró diferencias anuales al comparar los periodos de primavera del 2018 y verano del 2019 con primavera 2019 y verano 2020, ya que en el primer periodo la isoterma se ubicó en promedio a los 80 metros y para el segundo periodo se registró a los 50 metros. Además, durante el primer periodo se observó una columna de agua fuertemente estratificada a diferencia de los meses de verano del 2020, donde la columna esta menos estratificada debido a que el gradiente de temperatura es menor.

La salinidad registrada fluctuó entre $6.5 \text{ a } 32.7$, los menores valores se registraron en superficie y los mayores en profundidad, debido a la presencia de agua estuarina. Se observa una profundización de la isohalina de 32 la que desaparece en agosto de 2019.

La concentración de clorofila (Figura 5.2.11) registrada por el sensor vario de $0 \text{ a } 8 \text{ mg L}^{-1}$, se registraron dos máximos uno en diciembre 2018 y el otro en febrero de 2019, él que además estuvo asociado a la máxima concentración de *A. catenella* registrado con 1400 cel L^{-1} .



La concentración de *A. catenella* en el anclaje de Jacaf, fue registrada en 3 oportunidades; estas concentraciones se ubicaron entre 0 y 20 metros en noviembre, febrero de 2018 y octubre de 2019.

La concentración de nitrato (Fig. 5.2.12) varió entre 0 a 23,5 μM (promedio $7,3 \pm 6,0 \mu\text{M}$), los mayores valores se registraron entre el término de la primavera de 2018 y durante el verano de 2019, estas altas concentraciones ($\sim 20 \mu\text{M}$) se extendieron desde los 10 metros hasta los 50 para luego disminuir abruptamente su concentración en febrero de 2018. En cuanto a la distribución de nitrito, este no registró un patrón definido en la columna de agua ni a lo largo del tiempo, sin embargo, su concentración varió de 0 a 2,7 μM (promedio $0,5 \pm 0,6 \mu\text{M}$). La concentración de fosfato fluctuó entre 0 y 2,8 μM (promedio $0,5 \pm 0,6 \mu\text{M}$), los menores valores se registraron para el periodo de otoño e invierno del 2019, ya que las concentraciones mayores a 1 están asociadas a periodos de primavera y verano. La distribución de silicato fluctuó entre 0,1 y 66 μM (promedio $8,2 \pm 8,0 \mu\text{M}$), a grandes rasgos durante otoño e invierno se observan grandes concentraciones de silicato en los primeros 30 metros de la columna de agua

En cuanto a la razón N:P (Fig. 5.2.13), en general se registraron valores menores a 16 durante primavera y verano a diferencia de los observado durante el periodo de otoño e invierno donde los valores fueron mayores a 16.

5.2.3. Ajustes del modelo conceptual físico-biológico, incorporando las tasas de máximo crecimiento de *Alexandrium catenella* a distintos rangos de temperatura, salinidad, nutrientes y luz, además de estimar las tasas de pérdidas o remoción celular desde la columna de agua.

Modelo Conceptual para *Alexandrium catenella* en relación con procesos físicos y biológicos.

En las etapas anteriores de este proyecto se ha recopilado la información que se requiere para la construcción de un modelo físico y biológico para estimar la distribución y abundancia del dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella* en fiordos y canales del sur de Chile. La construcción de este modelo físico-biológico está basada en un modelo conceptual que muestra de manera esquemática las interacciones existentes entre *A. catenella* y los distintos procesos biológicos (verde), físicos (gris) y las estrategias biológicas que interactúan con estos procesos físicos-biológicos (rojo) (Fig. 5.2.14). El modelo conceptual planteado permite comprender la dinámica del crecimiento y la distribución de *A. catenella* a través de la estimación de los cambios en la densidad celular por medio del balance de las ganancias (crecimiento y acumulación) y pérdidas (pastoreo, muerte celular, sedimentación, parasitismo y dispersión) todo dentro del contexto de la variabilidad del entorno físico

Relaciones entre las floraciones de *A. catenella* y los parámetros ambientales.

Temperatura y salinidad

Para evaluar las condiciones de temperatura y salinidad en las cuáles se desarrollan las floraciones de *A. catenella* en la región de estudio, se agruparon los datos de los contajes celulares de esta microlalga (células $\times \text{L}^{-1}$) en el estrato entre la superficie y 10 metros. A partir de esta información, se obtuvo que, en la región de Los Lagos, los rangos de la temperatura y salinidad fluctuaron entre 5,8 – 22°C y 8 – 34 PSU, respectivamente, donde las mayores densidades (entre 1.000 a 99.999 células $\times \text{L}^{-1}$) se registraron en un rango de temperatura y salinidad entre 10,5 – 12,5 °C y 33 – 34 PSU (Fig. 5.2.15a). En la región



de Aysén, los rangos de la temperatura y salinidad fueron más amplios, fluctuando entre 9 – 13°C y 32 – 35 PSU, respectivamente, sin embargo, las mayores densidades (entre 10.000 a >1.000.000 células x L⁻¹) se registraron en un rango estrecho de temperatura y salinidad entre 12 – 14 °C y 22 – 34 PSU, respectivamente (Fig. 5.2.15b). En la región de Magallanes, los rangos de la temperatura y salinidad fueron más amplios, fluctuando entre 5 – 12°C y 20 – 32,5 PSU, respectivamente, sin embargo, las mayores densidades (entre 1.000 a 99.999 células x L⁻¹) se registraron en un rango de temperatura y salinidad entre 5,5 – 10 °C y 20 – 32,5 PSU, respectivamente (Fig. 5.2.15c).

A partir de datos de bibliografía y experimentos, realizados durante el desarrollo de este estudio, para conocer las tasas de máximo crecimiento de *A. catenella* a distintos rangos de temperatura y salinidad, se observó que las mayores tasas de crecimiento (0,73 div. d⁻¹) fueron obtenidas en los tratamientos una temperatura y salinidad de 15°C y 35 PSU (Fig. 5.2.16). Estos valores de temperatura y salinidad son cercanos a los registrados para los máximos celulares registrados en la región de Aysén (Fig. 5.2.15b).

La dependencia del crecimiento con la temperatura y salinidad son evaluadas a partir del modelo propuesto por [Platt & Jassby \(1976\)](#), en el que la tasa de crecimiento máxima μ_{max} es modulada por las condiciones óptimas de temperatura (T) y salinidad (S). En nuestro caso, y tomando en consideración los datos de máximos de densidad de *A. catenella* y los experimentos de tasas de crecimiento, tenemos que el rango de temperatura ambiental óptimo se encuentra entre 12 y 14°C y que este aumenta a 15°C en ambientes controlados experimentalmente, mientras que, en términos de salinidad este rango es más amplio y varía entre 22 y 34 PSU en muestras del ambiente y aumenta a 35 PSU en ambientes controlados. Si trasladamos esta información a la interacción del crecimiento celular de *A. catenella* con la variabilidad ambiental, tenemos que fuera de estos rangos óptimos, la tasa de crecimiento máxima μ_{max} debería verse afectada, lo cual es calculado con la siguiente ecuación:

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

Donde $\mu(T_{op}, S_{op})$ es la tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad, $f(T)$ y $f(S)$ son ajustes polinomiales cúbicos normalizados para que sus resultados varíen entre 0 y 1 obtenidas de datos de laboratorio de [Watras et al. \(1982\)](#), bajo las siguientes ecuaciones:

$$f(T) = -0,000347T^3 + 0,0097T^2 - 0,0133T + 0,131$$
$$f(S) = -0,0022S^2 + 0,103S - 0,195$$

Para la construcción de estas funciones, el trabajo de [Watras et al. \(1982\)](#) se basó en numerosos experimentos de tasas de crecimiento de la *Gonyaulax tamarens*, denominada posteriormente por un lapso prolongado como *Alexandrium tamarense* del complejo tamarense-catenella-fundyense y actualmente como *A. catenella*, donde se reportaron tasas de crecimiento máximas de 0,35 div. d⁻¹ en un rango de temperatura de 13 - 22°C y salinidad de 25,5 PSU. Sin embargo, estos valores que se alejan de los rangos obtenidos, tanto en las muestras ambientales como en los experimentos desarrollados durante este proyecto. Debido a ello, y como forma de ajustar los parámetros a las



condiciones de nuestros datos de terreno y experimentales, es que fue necesario recalcular las funciones de temperatura y salinidad con ajustes polinomiales cúbicos:

$$f(T) = -0,0004T^3 + 0,0066T^2 + 0,04T + 0,19$$
$$f(S) = -0,0022S^2 + 0,125S - 0,765$$

En la figura 5.2.17 se muestra la gráfrica del cálculo de la tasa de crecimiento máximo, utilizando 0,73 div. d⁻¹ como máximo de tasa de crecimiento de *A. catenella*. La figura muestra los valores de las tasas en funci3n de las distintas combinaciones de temperatura y salinidad, donde los valores máximos se ajustaron a las condiciones de temperatura y salinidad óptimos seg3n nuestros registros de terreno y experimentales. En términos de la modelaci3n biol3gica, las tasas de crecimiento de *A. catenella* ser3n máximas cuando se encuentren temperaturas cercanas a los 15°C y salinidades cercanas a los 27 PSU, fuera de estos valores las tasas de crecimiento comienzan a disminuir progresivamente a medida que las combinaciones de temperaturas y salinidades se alejan del rango óptimo.

Nutrientes y Luz

A partir de datos de los experimentos de bioensayo para conocer las tasas de máximo crecimiento de *A. catenella* a distintos rangos de nutrientes y luz, se observ3 que las mayores tasas de crecimiento (0,35 div. d⁻¹) fueron obtenidas en los tratamientos con una concentraci3n de nutrientes de 8,8 µM y luz de 100 µE m⁻² s⁻¹ (Fig. 5.2.18).

La dependencia de nutrientes puede ser modelada a partir de las ecuaciones cinéticas de Michaelis-Menten con una constante de saturaci3n media K_n (µM) para los nutrientes inorgánicos disueltos (*NID*), seg3n la siguiente ecuaci3n:

$$\mu(DIN, T, S) = \mu(T, S) \times \frac{[NID]}{K_n + [NID]}$$

Donde K_n se encuentra en un rango entre 0 y 3 µM y la concentraci3n de nutrientes para el cálculo de la tasa máxima de crecimiento de *A. catenella* es de 8,8 µM.

A partir de los registros de nutrientes, de las muestras recolectadas y analizadas en la regi3n de Aysén, durante esta etapa del proyecto, se observ3 que durante verano, cuando las floraciones de *A. catenella* son más frecuentes, las concentraciones promedio de nitrato, nitrito, f3stafo y silicatos fueron de 4,18 (0,06 – 10,14)µM, 0,96 (0,01 – 1,14)µM, 0,98 (0,01 – 3,20)µM y 4,61 (0,17 – 16,31)µM, respectivamente. Las razones entre nitrato y f3stafo (NO₃:PO₄₋₃) durante este periodo fueron en promedio de 4,3 (3,2 – 6,0), estas proporciones se encuentran en un rango bajo de nitrato considerado como limitante para el crecimiento celular. Sin embargo, durante la floraci3n de *A. catenella*, registrada en el verano de 2018, las razones entre nitrato y f3stafo alcanzaron un promedio de 10,2 (5,1 – 16,2), donde el nitrato no estar3a limitado para el crecimiento celular de esta microalga.



De acuerdo a las tasas de crecimiento calculadas, los valores máximos están asociados a condiciones de luz de $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Estos valores de luz son cercanos a los registrados durante la floración de *A. catenella* registrada en el verano del 2018, donde se observó que, asociada a un máximo subsuperficial (5m), esta microalga alcanzó valores cercanos a los $350.000 \text{ cél L}^{-1}$, a esta profundidad la luz incidente en la columna de agua fue cercana a $80 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Remoción de las células de *A. catenella* desde la columna de agua

Alexandrium catenella es una especie que sigue un crecimiento de forma exponencial (como la mayoría del fitoplancton), donde los factores que regulan la densidad celular en el tiempo y espacio incluyen un número de células inicial (N_0), la tasa de crecimiento (μ) y las pérdidas totales (PT), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$N_t = [N_0 + \mu \times N_0] - [PT \times (N_0 + \mu \times N_0)]$$

Donde las pérdidas totales (PT) constituye el coeficiente de decaimiento y representa la remoción de las células de *A. catenella* desde la columna de agua. Al final del día se calcula una nueva cantidad de células que es igual a $PT \times N$, donde N es el número de células antes del proceso de pérdidas de células (N = número total de células del día anterior más las células adheridas a partir del proceso de crecimiento del presente día). En consecuencia, el número total de células N_t , posterior a los procesos de crecimiento y pérdidas es dependiente de factores abióticos como la temperatura (T), salinidad (S), irradiancia no espectral (E) y para aquellos ambientes donde existe limitación por nutrientes, la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos (NID).

La remoción de las células desde la columna de agua tiene por objetivo modelar el proceso de término o decaimiento de una floración de *A. catenella*. Esta remoción desde la columna de agua contempla al menos, tres procesos: la predación por el zooplancton, la sedimentación por formación de quistes y la mortalidad por senescencia celular o falta de nutrientes. En general los modelos consideran a estos procesos como tasas constantes que no tienen en cuenta la variabilidad asociada a los cambios de la temperatura.

Para ello, se propone usar un término de mortalidad que varíe con la temperatura en base a la formulación propuesta por [Durbin & Durbin \(1992\)](#)

:

$$PT = a \cdot Q_{10}^{[(T-10.35)/10]}$$

Donde $a=0.066$ y $Q_{10}=21.75$.

La función de mortalidad por efecto de la temperatura se presenta en la figura 5.2.19. Ella representa la actividad de los posibles predadores de *A. catenella* y el aumento de su presión sobre su presa debido al aumento de temperatura. Se entiende que esta ecuación representa una simplificación del conjunto de procesos que determinan las pérdidas totales y que se debe mantener el esfuerzo en la investigación de las tasas de mortalidad, predación y enquistamiento.



Usando las tasas de mortalidad para cada temperatura, se recalculó la tasa de crecimiento máxima representada en la figura 5.2.19, restando del crecimiento las pérdidas por mortalidad. La figura 5.2.20, muestra que el impacto por predación disminuiría el crecimiento máximo en un promedio de $0,17 \pm 0,40$ div. d^{-1} , si se considera el rango entre 7 a $20^{\circ}C$ con una tasa de crecimiento máximo de $0,73 \text{ div. } d^{-1}$.

Interacción de *A. catenella* con procesos físicos

Estratificación

Dado a que durante los veranos 2019 y 2020 no se han registrado floraciones importantes de *A. catenella*, para la evaluación del efecto de la estratificación sobre la distribución vertical de esta microalga, se utilizó la información recogida durante la primera semana de febrero de 2018, cuando ocurrió una importante floración de *A. catenella* en la región de Aysén, de la cual se obtuvo información de la distribución vertical de esta microalga durante una campaña realizada en los canales Jacaf y Moraleda y fiordo Puyuhuapi, cuyas estaciones de muestreo se presentan en la figura 5.2.21.

Para la evaluación de la estratificación vertical se utilizó la anomalía de energía potencial (Φ), este parámetro describe la cantidad de energía requerida para generar una completa mezcla vertical de la columna de agua y por tanto es directamente proporcional a la fuerza de estratificación (Simpson et al., 1990).

$$\Phi = \frac{1}{h_2 - h_1} \int_{-h_2}^{-h_1} (\rho - \bar{\rho}) g \cdot z \cdot dz ; \bar{\rho} = \frac{1}{h_2 - h_1} \int_{-h_2}^{-h_1} \rho \cdot dz$$

donde, h_2 y h_1 son las profundidades en metro de la columna de agua donde se observó la ubicación del máximo de clorofila a , g es la aceleración gravitacional ($m \cdot s^{-2}$), ρ es la densidad ($kg \cdot m^{-3}$). La magnitud de Φ es 0 cuando la columna está completamente mezclada e incrementa con la estratificación.

La figura 5.2.22 muestra que las anomalías de energía potencial fluctuaron entre $150 J \cdot m^{-3}$ y $350 J \cdot m^{-3}$, es decir todas las estaciones presentaron algún nivel de estratificación. La estación más estratificada fue la A19, le siguió la estación SM y A16N1. Las estaciones menos estratificadas fueron las ubicadas en la boca del canal Jacaf (A14 y A15). Durante este estudio el nivel de estratificación fue inversamente proporcional a la densidad celular de *A. catenella*, así en las estaciones con menor estratificación (A14) la concentración celular alcanzó densidades sobre $140.000 \text{ células } L^{-1}$ (Fig. 5.2.23). Por el contrario, en aquellas estaciones que presentaron los mayores niveles de estratificación (A19, SM) se registraron las concentraciones celulares más bajas.

Sin embargo, cuando se realiza un análisis temporal de la información recogida por el proyecto, utilizando los valores de densidad celular de *A. catenella* en función de la temperatura y salinidad, se obtiene que las mayores densidades ($>100.000 \text{ células } L^{-1}$) estuvieron asociadas a aguas estratificadas, que presentaron diferencias positivas de temperatura ($0 - 3^{\circ}C$) y negativas para la salinidad ($0 - 10$ PSU) (Fig. 5.2.24), esto quiere decir que son aguas más cálidas y con menor salinidad.



De acuerdo con los datos de densidad celular de *A. catenella* obtenidos durante las floraciones registradas en la región de Aysén en los años 2009 y 2018 (Figs. 5.2.25 y 5.2.26), podemos indicar que, en ambas floraciones, las mayores concentraciones celulares (>400.000 células L^{-1}) se registraron a lo largo del eje del canal Moraleda, coincidiendo con un aumento de la temperatura ($14^{\circ}C$) y una disminución en la salinidad (28 PSU).

Interacción de *A. catenella* con procesos biológicos

Interacción con otras microalgas

A partir de los datos de la composición del fitoplancton obtenidos durante la floración de *A. catenella* en el verano – otoño de 2016, se construyeron gráficos de coherencia que muestran el conjunto de especies que presentan un patrón estadístico de respuesta común. La figura 5.2.27 muestra la evolución temporal, entre septiembre de 2015 a septiembre de 2016, resultante del análisis de coherencia de las 40 especies dominantes de la comunidad fitoplanctónica, en la cual se observa que el patrón de distribución de *A. catenella* muestra una respuesta común con las especies *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Thalassionema nitzschioides*, *Scrippsiella* spp., *Chaetoceros* spp. y *Thalassiosira subtilis*. Cuando se realiza el análisis de esta composición fitoplanctónica mediante un análisis de conglomerados representado con escalamiento multidimensional (MDS), se facilita el ordenamiento del fitoplancton según el índice de asociación con el cual está construida la matriz de similitud (Fig. 5.2.28). Este MDS muestra claramente que, *A. catenella* muestra una mayor similitud (mayor asociación) con las especies *Scrippsiella* spp., *Chaetoceros* spp. y *Thalassiosira subtilis*, durante los días 22 y 28 de abril de 2016, son estas especies las que acompañaron la floración de *A. catenella*.

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

A partir de las floraciones de *Alexandrium catenella* durante los años 2016 y 2018, que tuvieron una inusual distribución por la costa del océano Pacífico, se propuso que una floración con foco de inicio en la región de Aysén tendría una alta probabilidad de desarrollo hacia la región de Los Lagos y que este proceso estaría mediado por el efecto de los vientos sobre las corrientes predominantes. Estas condiciones favorables permitirían el transporte de esta microalga desde la zona norte de Aysén (zona fuente) a la zona sur de Chiloé (zona sumidero), por lo que, conocer las zonas fuentes que tienen origen en la región de Aysén son relevantes a la hora de estudiar la dinámica de estas floraciones, particularmente en el área septentrional de los fiordos y canales de la región de Aysén. Para evaluar los posibles focos de distribución de células de *A. catenella*, se utilizaron los análisis de la abundancia relativa (AR) para cada estación monitoreada por el programa en la zona norte de región de Aysén se compararon con el mismo periodo de muestreo del año durante los años 2015, 2016 y 2018 (Figs. 5.2.29 - 5.2.30).

Del análisis de esta información se destaca que, si bien, para ambos años se observó una presencia importante de la microalga en toda la región, se puede destacar que en el área norte de Aysén (Melinka, Canal Yacaf y Canal Moraleda) y Raúl Marín Balmaceda (RMB) los valores de AR durante el 2016 fueron altos, con niveles 6 – 7 a partir de enero, lo que indica un estado de floración de la microalga, y se mantuvieron altos durante febrero y marzo, mientras que, durante el 2018 los valores de AR en esta



zona fueron mayores a 6 Raúl Marín Balmaceda (RMB) alcanzando valores máximos en la zona de Melinka.

De acuerdo a esta información, se han realizado experimentos para conocer la distribución potencial de la distribución de *A. catenella* utilizando modelos de partículas en distintos focos de la región de Aysén (Fig. 5.2.31), los cuáles nos indican que una floración que ocurra en la zona de Melinka tiene una alta probabilidad de distribuirse hacia la zona de Chiloé sur. Teniendo en cuenta que, la información que se genere por medio de esta actividad debe permitirnos avanzar en la implementación de un modelo regional de Aysén, donde realizar nuevos ejercicios de modelación, se propone evaluar realizar estudios en la zona cercana a Melinka, donde la ocurrencia y niveles de *A. catenella* son altos.

El estudio de esta área es relevante, ya que la ocurrencia de una probable floración en esta zona tiene una alta probabilidad, si las condiciones atmosféricas – oceanográficas y especialmente los vientos son favorables, de ser transportada por las corrientes a la zona de sur de Chiloé.

Como una forma de atender a los aspectos anteriormente detallados, es que se propone que durante la nueva etapa del proyecto se registrará información hidrográfica, meteorológica y biológica. Para ello, se instalarán anclajes con sensores de temperatura, salinidad y clorofila HOB0 U20, HOB0 U24, Star Oddi, MiniDOT y Ciclop, que se mantendrán en la columna de agua durante, a lo menos, el periodo de primavera - verano registrando datos con una frecuencia de medición fue de 30 minutos. Además, en el mismo punto del anclaje se realizarán perfiles de CTD-O (temperatura, salinidad, densidad y fluorescencia), información que permitirá caracterizar la columna de agua. Este estudio se complementará con datos provenientes de la instalación de una estación meteorológica. En cuanto a la modelación biológica, las campañas oceanográficas a realizar permitirán conocer la distribución vertical de *A. catenella* durante un periodo de incremento celular (primavera y verano) y su relación con la disponibilidad de nutrientes, a través del muestreo a profundidades discretas del fitoplancton, clorofila y nutrientes en 6 profundidades (0, 5, 10, 15, 20 y 30 m).

Como complemento de los datos de terreno y para aumentar la densidad de la información que permita una buena modelación en la zona de Melinka, es que se cuenta con datos oceanográficos como para evaluar y calibrar el modelo y para los bordes se podrían utilizar datos del sistema de información oceanográfica 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 último punto.

5.3. Objetivo Específico 3:

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.

Actividad 1. Continuación análisis rutinario e incorporación de la representación gráfica.

**Conglomerados de la densidad del fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados.**

Para ayudar al lector a visualizar los resultados del análisis de conglomerados expresados gráficamente como MDS, las figuras se presentan con delineaciones elípticas de los conglomerados, dibujadas arbitrariamente para resaltar las estaciones por región. También se han utilizado letras, para identificar geográficamente los subgrupos dentro de cada conglomerado según cercanía de las estaciones (mayor similitud) y símbolo de agrupación arrojada por el análisis. A partir de estos conglomerados, se identificaron los sectores geográficos en cada región de la macrozona sur-austral (Fig. 5.3.1), que se describen en los resultados, de modo de facilitar la lectura del texto.

Los conglomerados MDS para los tres grupos de microalgas, reflejan principalmente el patrón geográfico de las estaciones de monitoreo, y está acorde con el concepto de límites geográficos basados en barreras físicas características de cada región (e.g. islas Desertores, golfo del Corcovado, canal Moraleda, constricción de Meninea, golfo de Penas, Angostura Inglesa, estrecho de Magallanes, canal Beagle, entre algunas de las mayores barreras física-geográficas conocidas), algunas de la cuales coinciden con los límites administrativos regionales. Sin embargo, la sensibilidad del análisis MDS, permite visualizar otras barreras de menor escala geográfica, que de otro modo son imperceptibles a simple vista, que favorecen la hipótesis de microhábitats y micro-nichos para la proliferación de especies de microalgas de interés en este estudio (e.g. [Karasiewicz et al., 2018](#); [Alves-de-Souza et al., 2019](#)). Parte de los resultados que se describen a continuación, presentan evidencias que respaldan esta hipótesis.

Conglomerados de fitoplancton en términos de densidad celular

La figura 5.3.2, muestra tres grandes grupos, dos de los cuales identifican claramente las estaciones del fiordo y seno de Reloncaví (color verde) de la región de Los Lagos, y las estaciones de la región de Magallanes (color celeste), mientras que el tercer grupo considera estaciones de diversos sectores geográficos tanto de las regiones de Los Lagos como de Aysén (en color rojo).

Realizando un acercamiento al interior de cada grupo, es posible observar detalle de las estaciones que los conforman, como es el conglomerado que contiene estaciones de las regiones de Los Lagos y Aysén (recuadro central derecho). En este caso es posible observar al menos siete grupos mayores: A_{jp}, Jacaf-Puyuhuapi; B_m, Meninea; C_{as}, Aysén sur; D_t, Tortel; E_{ai}, Aysén insular; F_{gc}, golfo Corcovado; G_{id}, islas Desertores. Si bien, existen otros grupos menores dentro de los grupos mayores, éstos no se identifican para facilitar la redacción de los resultados y evitar confundir al lector en esta etapa exploratoria de análisis. Las estaciones aisladas, producto del análisis MDS pertenecen mayormente al sector de islas Desertores, tanto al norte y sur de estas islas, como en la misma barrera que representa este conjunto de islotes en la región de Los Lagos. Las estaciones L04 y L04N3 están situadas al norte de islas Desertores, L10, L10N2 se sitúan geográficamente en la barrera que conforman estas islas, así como también incorpora estaciones al sur de las mismas como M23, superponiéndose con aquellas cercanas al golfo Corcovado como A06 que se sitúa en el sector de Raúl Marín Balmaceda.

Un acercamiento al sector de seno y fiordo Reloncaví (cuadro superior verde, Fig. 5.3.2) revela claramente la conformación de tres subgrupos situados en la boca del fiordo y en el fiordo mismo, mientras que las estaciones aisladas (están situadas en el seno Reloncaví, alejadas de la boca del fiordo. Las estaciones del fiordo, son las presentan las mayores densidades de células de fitoplancton



total de la región de Los Lagos. En este caso la configuración de los conglomerados resulta en una diferencia entre las estaciones del seno Reloncaví (L01 y L04N2) y las situadas en la boca e interior del fiordo del mismo nombre. A su vez las estaciones del seno Reloncaví se encuentran aisladas del grupo fiordo, evidencia que respalda la variabilidad del seno como hábitat para este grupo.

El detalle del conglomerado para la región de Magallanes (recuadro inferior derecho, color celeste), también revela siete grupos mayores, que identifican estaciones situadas en el área norte de Magallanes (grupo A_{mn}), diferenciando dentro de este gran grupo, aquellas situadas al norte, sur de isla Piazzzi (grupo C_{pn} y B_{ps} , respectivamente), y las estaciones situadas en el sector del ventisquero Peel (grupo D_p). Las estaciones situadas en el canal Beagle se identifican con E_{cb} , mientras las estaciones situadas en el estrecho de Magallanes se identifican con las letras F_{em} . Dentro de este último conglomerado, se identifican las estaciones situadas en los sectores occidental y oriental (F_{em-o} y F_{em-e} , respectivamente), y las estaciones localizadas en el interior de seno Otway (F_{em-so}). Los conglomerados resultantes, parecen reflejar hipotéticamente, diferentes condiciones ambientales que se plasman en la magnitud de la densidad de fitoplancton total. Así, el subgrupo C_{pn} , refleja la influencia del estrecho Nelson, dado que sus estaciones se sitúan frente a éste, mientras que las estaciones del grupo B_{ps} , se sitúa en un sector resguardado de la influencia directa de aguas oceánicas y de glaciares. Las estaciones del subgrupo D_p , están directamente conectadas al estero Peel.

Las estaciones situadas en el sector del estrecho de Magallanes oriental, tales como M36-M39 (extremo inferior de la delimitación F, denotada con F_{em-e}), están subdivididas en dos grupos, M36-M37 y M38-M39, situadas en dirección Sur-Norte del estrecho, entre cabo Forward y primera Angostura. Las barreras físicas más evidentes entre estos dos subgrupos, lo constituyen dos ríos que desembocan en el estrecho, con un importante caudal de agua y sedimentos. En este sector intermedio también se sitúa la ciudad de Punta Arenas. Es interesante notar, que las estaciones M34 y M35, resultan aisladas de los grupos antes definidos. Estas estaciones son las más próximas al sector de cabo Forward, por tanto, constituye una evidencia de su efecto como barrera física, con influencia hacia el sector oriental del estrecho de Magallanes en términos de densidad celular de fitoplancton total.

Otra estación que resultó solitaria en la región de Magallanes es M23, situada al interior del golfo Almirante Montt, sitio que se caracteriza por su aislamiento del resto de las estaciones de monitoreo de marea roja, condicionada por la barrera geográfica del paso Kirke, canal estrecho de alta escorrentía, que aísla al golfo y a la ciudad de Puerto Natales, de los canales y fiordos occidentales.

Conglomerados de diatomeas en términos de densidad celular

La figura 5.3.3, muestra tres grandes grupos, dos de los cuales identifican claramente las estaciones del fiordo y seno de Reloncaví (color verde) de la región de Los Lagos, y las estaciones de la región de Magallanes (color celeste), mientras que el tercer grupo considera estaciones de diversos sectores geográficos de las regiones de Los Lagos y Aysén (en color rojo). Un acercamiento a cada grupo (recuadros en verde, rojo y celeste) se muestra a la derecha de la figura 5.3.3.

Un acercamiento al sector de seno y fiordo Reloncaví (conglomerado A_r , cuadro superior derecho verde, Fig. 5.3.3), revela que está conformado por tres subgrupos y dos estaciones aisladas, L01 y L04N2. La



última estación se encuentra más alejada del conglomerado A_m y no alcanza a apreciarse en la figura (recuadro superior derecho), pero el patrón es similar al descrito para el grupo fitoplancton total.

En el recuadro central derecho, se observan los siete conglomerados mayores, descritos para el grupo de fitoplancton total: A_{jp} , Jacaf-Puyuhuapi; B_m , Meninea; C_{as} , Aysén sur; D_t , Tortel; E_{ai} , Aysén insular; F_{gc} , golfo Corcovado; G_{id} , islas Desertores. En este caso, los grupos Aysén insular y golfo Corcovado, presentan estaciones mejor definidas en relación a las regiones en las que se sitúan: Aysén o Los Lagos. Aunque cercanas al grupo Aysén insular, las estaciones A12, A18 (situadas en el canal Moraleda), y la estación A37 (situada al oeste de isla Teresa de Aysén insular), resultaron aisladas de los conglomerados arriba definidos, similar a lo observado para el grupo de fitoplancton total. El resto de las estaciones aisladas, mayoritariamente pertenecen al sector de islas Desertores (G_{id}), tanto al norte y sur de esta barrera, como en las proximidades de la misma. El patrón de islas aisladas como resultado del MDS, es similar al descrito para el grupo de fitoplancton total.

En el recuadro inferior (en celeste, Fig. 5.3.3) se observan los conglomerados para la región de Magallanes, que resultaron similares a los descritos para grupo de fitoplancton total. Esto es, el área norte de Magallanes (grupo A_{mn}), diferenciando de este gran grupo, aquellas situadas al norte y sur de isla Piazzzi (grupo B_{ps} y C_{pn} , respectivamente), y las estaciones situadas en el sector del ventisquero Peel (grupo D_p). En otro conglomerado están representadas las estaciones situadas en el canal Beagle (grupo E_{cb}), mientras el grupo F_{em-so} , identifica las estaciones situadas en el estrecho de Magallanes e interior del seno Otway. En términos de densidad de diatomeas, la estación M35, se encuentra considerada dentro del subgrupo de estaciones del estrecho de Magallanes occidental (F_{em-o}). Solo la estación M34 resultó aislada de los grupos antes definidos, evidencia que demuestra en términos de densidad celular, que la estación M35 presenta condiciones ambientales que afectan distintamente al fitoplancton y las diatomeas, mientras que la M34 presenta condiciones similares para ambos grupos.

Conglomerados de dinoflagelados en términos de densidad celular.

La figura 3.19, muestra tres grandes conglomerados para el grupo de dinoflagelados, dos de los cuales identifican claramente estaciones de la región de Los Lagos (color verde) y Magallanes (color celeste), mientras un tercero (color rojo), identifica estaciones tanto de las regiones de Los Lagos como Aysén. Sin embargo, el patrón de estaciones que componen cada grupo difiere notoriamente de los descritos para los grupos de fitoplancton total y diatomeas. En caso de los dinoflagelados, son mayormente frecuentes los conglomerados conformados por grupos con más de dos estaciones, e incluso, aparentemente conformados en 2D, por estaciones geográficamente distantes, pero similares en términos de densidad celular (e.g. ver círculo rojo en recuadro principal). Este patrón de conglomerados, difiere notoriamente a los descritos anteriormente para los grupos totales de fitoplancton y diatomeas. El resultado demuestra que la distribución geográfica de los dinoflagelados como comunidad fitoplanctónica, es diferente a la de fitoplancton y diatomeas en la macrozona sur-austral.

En el primer recuadro superior derecho (color verde, Fig. 5.3.4), se delimitan básicamente cuatro conglomerados, cuyas estaciones se sitúan geográficamente en dos sectores de acuerdo a los descrito anteriormente: Golfo Corcovado (F_{gc}) e islas Desertores (G_{id}). Dentro de los conglomerados G_{id} , es posible identificar estaciones de las islas desertores norte (G_{id-n}), sur G_{id-s} y en la barrera misma (G_{id-b}). En el conglomerado F_{gc} , es posible observar estaciones de los subgrupos de islas Desertores, G_{id-b}



y G_{id-s} , muy cercanas (mayor similitud) a las estaciones que componen el conglomerado golfo Corcovado. Las estaciones que resultaron aisladas, pertenecen a los sectores de islas Deserto sur (G_{id-n}), barrera de islas Deserto (G_{id-b}) y golfo Corcovado (F_{gc}).

En recuadro central derecho (color rojo, Fig. 5.3.4), se delimitan cinco conglomerados, cuyas estaciones se sitúan en el fiordo y seno Reloncaví (A_r) en la región de Los Lagos; estaciones de la región de Aysén situadas en el sector canal Jacaf-Puyuhuapi (A_{jp}), Tortel (D_t), golfo Corcovado (F_{gc}), conglomerado central en el que se confunden estaciones de Meninea (B_m), Aysén sur (C_{as}), Aysén insular (E_{ai}) y canal Jacaf-Puyuhuapi (A_{jp}). También se visualizan estaciones aisladas en la región de Los Lagos, del sector de islas Deserto norte (G_{id-n}) y en la barrera misma (G_{id-b}), Aysén sur (C_{as}) y estación del fiordo Reloncaví aledaña a su cabecera (A_r).

Para la región de Magallanes, se han delimitado cuatro conglomerados que representan los sectores: Magallanes norte (A_{mn}), estrecho de Magallanes (F_{em}), seno Otway (F_{em-so}) y canal Beagle (E_{cb}). Los conglomerados E_{cb} , F_{em-so} y F_{em} , están conformados por grupos únicos, salvo la estación M30, que queda aislada del grupo F_{em} .

En el conglomerado A_{mn} , se destacan los subgrupos del sector de isla Piazzini sur (B_{ps}); ventisquero Peel (D_p), que además de las estaciones M13 y M14, incorpora la estación M15 y estaciones del grupo A_{mn} , como M10, M11 y M12 (las seis situadas en la línea más costera con fuerte influencia directa de agua oceánicas a través de los canales Trinidad, Concepción, Inocentes y estrecho Nelson). La estación M16, antes en el subgrupo C_{pn} en el análisis MDS para fitoplancton y diatomeas, pasa a ser parte del subgrupo sector Piazzini sur (B_{ps}), en el grupo dinoflagelados, mientras M06 queda aislada del grupo A_{mn} .

Relación entre la densidad celular promedio del fitoplancton, diatomeas y dinoflagelados

La figura 5.3.5A, muestra para la macrozona austral, que existe una alta correlación entre la densidad celular promedio para cada estación de muestreo, periodo octubre 2007- febrero 2019, del fitoplancton total y la densidad celular de las diatomeas ($R^2= 0.994$, $p<0.0001$, pendiente $\neq 0$ (0.997)). El alto coeficiente de determinación, explica la similitud entre los conglomerados de estaciones resultante del análisis MDS para ambos grupos.

La relación entre fitoplancton o diatomeas, con los dinoflagelados, es muy baja, aunque estadísticamente significativa ($R^2= 0.070$, $p<0.0012$, pendiente $\neq 0$ (0.265)). La figura 5.3.5B muestra que las densidades promedio periodo octubre 2007- febrero 2019, de dinoflagelados >25.000 cél L^{-1} (marco gris), ocurren con rangos de densidad celular promedio periodo octubre 2007- febrero 2019, de fitoplancton y/o diatomeas entre los 200.000 y 900.0000 cél L^{-1} . Las estaciones con densidad celular promedio del periodo >20.000 cél L^{-1} de dinoflagelados, se sitúan en o aledañas, a los sectores: golfo Corcovado (F_{gc}), seno-golfo Reloncaví (A_r), y Magallanes norte (A_{mn}), principalmente. Valores de densidad celular promedio del periodo <20.000 cél L^{-1} de dinoflagelados, es posible observarlos a lo largo de la macrozona sur-austral.

Distribución espacio temporal de los taxones de dinoflagelados nocivos.

Alexandrium catenella



La figura 5.3.6 muestra el análisis de ordenación por el método de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) para los datos puntuales de *A. catenella* en términos de abundancia relativa para el periodo comprendido entre octubre del 2007 a febrero del 2019. Una mirada general nos muestra la separación de las tres regiones administrativas (Los Lagos, Aysén y Magallanes), lo que nos indica que existen grandes patrones tanto espaciales como temporales característicos de cada una de las regiones los cuales hacen que se diferencien y segreguen en forma separada (Fig. 5.3.6a). Si se observan con mayor detalle estos tres grandes grupos, podemos encontrar varios patrones que coinciden con los datos mostrados por la serie de tiempo de esta especie (Fig. 5.3.6) en la cual podemos apreciar una clara diferenciación entre las diferentes zonas administrativas. Para la región de Los Lagos se puede apreciar la segregación de estaciones las cuales se separan en cuatro zonas; Estuario y Seno de Reloncaví (Chiloé Norte), zona de Chiloé centro, Canal Corcovado y Zona de Chiloé sur (Fig. 5.3.6b). Para la región de Aysén podemos observar la diferenciación de cuatro grandes zonas; estaciones de la zona de Melinka, otro gran grupo en la zona centro-norte de Aysén que abarca estaciones tanto del sur de Melinka, canal Jacaf y Puyuhuapi como del canal Moraleda. Otro grupo es el conformado por estaciones ubicadas en la zona de Aysén sur y otro más pequeño en la zona de Tortel (Fig. 5.3.6c). En cuanto a los grupos que se forman en la zona de Magallanes podemos dividirlos en tres grandes zonas; Magallanes norte desde Isla Morton (M01N) hasta Estero Ringdove (M25N), canal Beagle y algunas estaciones de la zona centro de Magallanes las cuales van desde Estero Sullivan (M27) a Río Seco (M38) (Fig. 5.3.6d)

Haciendo un análisis más profundo se puede apreciar la conformación de un total de 54 grupos de estaciones con un porcentaje promedio de similitud (SIMPROF) mayor a 70. Del total de grupos, 18 están en la región de Los Lagos, 21 en Aysén y 15 en Magallanes. De los 54 grupos, el análisis segregó de forma independiente un total de 15 grupos representados sólo por una estación (5 para Los Lagos, 7 para Aysén y 3 para Magallanes). Por otra parte, los grupos segregados con un mayor número de estaciones, fueron el grupo **ag** que reunió 8 estaciones ubicadas entre canal Pilcomayo (A42) hasta canal Vicuña (A51), con una Abundancia Relativa Promedio Máxima (ARPM) de 7 presentada en el mes de marzo 2018. El grupo **ab** reunió 7 estaciones ubicadas entre isla Sierra (A35) hasta canal Ninualac (A41), con una ARP = 8,3 presentada en el mes de marzo 2009. El grupo **n**, reunió 7 estaciones, ubicadas entre isla Morton (M01N) e isla Crossover (M07), todas ubicadas en la zona de Magallanes norte, presentando una ARP = 5,14 en febrero 2018. El grupo **m**, reunió 7 estaciones ubicadas entre seno Ventisquero (M40) y Puerto Eugenia (M46), todas ubicadas en la zona de Magallanes sur, presentando una ARP = 6,6 en enero 2013. Estos cuatro grupos, representan el 20% del total de las estaciones distribuidas entre la región de Los Lagos a Magallanes.

La figura 5.3.7, nos muestra el análisis de la serie temporal completa para los promedios de las estaciones de los 9 diferentes sectores, comprendidas entre el periodo de octubre 2007 a febrero de 2019 para los datos de abundancia relativa de *A. catenella*.

Se puede observar que esta microalga se encuentra de forma permanente desde Chiloé Sur hasta el Canal Beagle, pero difiere en su abundancia y en su distribución temporal. En general, *A. catenella* no registra presencia importante en la zona norte y centro de la región de Los Lagos (Chiloé Norte y Centro)



el periodo entre octubre del 2007 y marzo del 2016 con m3ximos de AR en febrero del a3o 2018, los cuales alcanzaron niveles entre 4 y 8. Por otro lado la zona de Chilo3 Sur muestra AR relativamente bajas para este mismo periodo, con excepciones en 2009 y 2012 donde hubo incrementos leves en los niveles, los cuales no superaron el nivel 5. Al igual que las otras dos zonas los niveles de AR se incrementan a partir de enero del 2016 llegando hasta nivel 9 (m3ximo nivel en la escala de AR). Caso opuesto es el que presentan las zonas de Ays3n Norte y Sur en los cuales podemos observar un patr3n estacional (mas marcado en la zona sur) con fuertes aumentos durante el periodo enero-marzo desde el comienzo de la serie temporal, los niveles m3ximos de AR para el periodo estival oscilan entre 4 y 9.

Por otro lado, la zona de Tortel no presenta un patr3n estacional definido, con oscilaciones aleatorias las cuales pueden presentar m3ximos de AR tanto en periodos de verano como en invierno o primavera. Por 3ltimo, la regi3n de Magallanes presenta comportamientos diferentes entre sus tres zonas. Para las zonas de Magallanes norte y centro, no se observa un patr3n estacional definido, sin embargo, podemos distinguir una tendencia a la disminuci3n en los niveles de AR a partir del a3o 2013, en los cuales las AR promedios no han superado el nivel 4. Situaci3n diferente observamos en la zona del Canal Beagle donde si podemos encontrar un claro patr3n estacional con aumentos en los niveles de AR en los periodos desde diciembre a abril con m3ximos que oscilan entre nivel 4 y 7.

Alexandrium ostenfeldii

La figura 5.3.8 muestra el an3lisis de ordenaci3n por el m3todo de escalamiento multidimensional no m3trico (nMDS) para los datos puntuales de *A. ostenfeldii* en t3rminos de abundancia relativa para el periodo comprendido entre octubre del 2007 a febrero del 2019. Una mirada general nos muestra la separaci3n de las tres regiones administrativas (Los Lagos, Ays3n y Magallanes), lo que nos indica que existen grandes patrones tanto espaciales como temporales caracter3sticos de cada una de las regiones los cuales hacen que se diferencien y segreguen en forma separada (Fig. 5.3.8a). Para la regi3n de Los Lagos se puede apreciar la segregaci3n de estaciones las cuales se separan en zonas delimitadas por 3reas cercanas en la regi3n. As3 podemos ver grupos en 3reas de estuario de Reloncav3 (grupo l), seno de Reloncav3 (grupo q), Chilo3 centro (grupos e, j, ad y aa), y en la zona de Chilo3 sur (grupos v, x, t e y) (Fig. 5.3.8b). Para la regi3n de Ays3n se observan grupos en las distintas zonas de la regi3n. De esta forma, encontramos grupos en la zona norte de Ays3n, diferenci3ndose en la zona de Melinka (grupos p y o), Jacaf-Puyuhuapi (grupo ag) y Moraleda (grupo af). En la zona sur, se conformaron tres grupos que reuni3 una mayor cantidad de estaciones en base a su similitud (grupos al, am y an). Finalmente, las estaciones localizadas en la zona de Tortel, segregaron en un solo grupo (grupo n) (Fig. 5.3.8c). Para la regi3n de Magallanes, se observaron peque3os grupos en la zona norte (grupo i, g y h), un gran grupo para las estaciones de la zona de Magallanes centro (grupo b), y un grupo con las estaciones de Magallanes sur (grupo ap) (Fig. 5.3.8d).

Haciendo un an3lisis m3s profundo se puede apreciar la conformaci3n de un total de 42 grupos de estaciones con un porcentaje promedio de similitud (SIMPROF) mayor a 70. Del total de grupos, 19 est3n en la regi3n de Los Lagos, 14 en Ays3n y 9 en Magallanes. De los 42 grupos, el an3lisis segreg3 de forma independiente un total de 16 grupos representados s3lo por una estaci3n (8 para Los Lagos, 4 para Ays3n y 4 para Magallanes). Por otra parte, los grupos segregados con un mayor n3mero de



estaciones, fueron el grupo **b** que reunió 14 estaciones ubicadas entre bahía Fanny (M24) hasta Punta Zenteno (M39), ubicadas en Magallanes centro, con una Abundancia Relativa Promedio Máxima (ARPM) de 1,2 presentada en el mes de diciembre 2015. El grupo **aI** reunió 10 estaciones ubicadas entre isla Canquenes (A26) hasta isla Rojas-Paso Tres Cruces (A54), con una ARPM = 3,6 presentada en el mes de abril 2017. El grupo **an**, reunió 9 estaciones, ubicadas entre Punta Calqueman (A18) y canal Ninualac (A41), todas ubicadas en la zona de Aysén norte, presentando una ARPM = 3,56 en agosto 2014. El grupo **h**, reunió 9 estaciones ubicadas entre estero Falcón (M08) y Puerto Fontaine (M21), todas ubicadas en la zona de Magallanes norte, presentando una ARPM = 1,56 en noviembre 2018. Estos cuatro grupos, representan el 29% del total de las estaciones distribuidas entre la región de Los Lagos a Magallanes.

La figura 5.3.9, nos muestra el análisis de la serie temporal completa para los promedios de las estaciones de los 9 diferentes sectores, comprendidas entre el periodo de octubre 2007 a febrero de 2019 para los datos de abundancia relativa de *A. ostenfeldii*. Se puede observar que esta microalga se encuentra de forma permanente desde las zonas de Chiloé norte hasta Magallanes sur, pero difiere en su abundancia y en su distribución temporal. En general, *A. ostenfeldii* no registra presencia importante en la zona norte centro y sur de la región de Los Lagos, manteniendo nula presencia entre el periodo 2007 a 2009. Sin embargo, desde el 2010, se observa un aumento gradual en su abundancia relativa, manteniendo abundancias bajas, alcanzando máximos de AR = 3. En la región de Aysén, tanto para la zona norte y sur, se observa la presencia de *A. ostenfeldii* desde el año 2012, con pequeñas fluctuaciones que van entre 0 a 4 hasta el 2019, mientras que para la zona de Tortel, estas fluctuaciones se observan desde mediados del 2009. En la región de Magallanes, tanto para la zona norte, centro y sur de la región, se observa la presencia de este dinoflagelado desde fines del 2010, con fluctuaciones en sus AR que van entre los 0 a 2 hasta el 2019.

Dinophysis acuminata

El análisis de conglomerados para *D. acuminata* (Fig. 5.3.10a) nos entrega patrones generales similares a los obtenidos con *A. catenella*. Las estaciones ubicadas en la zona del estuario y Seno de Reloncaví siguen segregando en forma separada del resto (Fig. 5.3.10b), mientras que la diferencia que podemos encontrar para la región de Los Lagos está, dada por las zonas de Chiloé centro y sur las cuales se agrupan más cercanas a las estaciones de Aysén Norte. Sin embargo, la región de Aysén es bastante difusa en la conformación de los diferentes conglomerados, y en la cual podemos separar las estaciones en dos grandes grupos, los cuales contienen una gran cantidad de estaciones de la parte norte de Aysén y centro sur de Chiloé (Fig. 5.3.10c), con pequeños sub-grupos los cuales no agrupan mas de 5 estaciones, estando conformadas en su mayoría por sub-grupos de entre dos y tres estaciones. Al igual que las especies anteriores, la región de Magallanes se diferencia y segrega aparte de las otras dos regiones, y presenta algunos patrones similares a las otras especies. Nuevamente el canal Bleagle segrega aparte de las otras estaciones de la región, caso similar ocurre con las estaciones de la zona Norte de Magallanes y finalmente las estaciones ubicadas en el estrecho de Magallanes (Fig. 5.3.10d)

El análisis de clúster nos indica la conformación de un total de 54 grupos de estaciones con un porcentaje promedio de similitud (SIMPROF) mayor a 70. Del total de grupos, 19 están en la región de



Los Lagos, 20 en Aysén y 15 en Magallanes. De los 54 grupos, el análisis segregó de forma independiente un total de 15 grupos representados sólo por una estación (6 para Los Lagos, 4 para Aysén y 5 para Magallanes). Por otra parte, los grupos segregados con un mayor número de estaciones, fueron el grupo **aw** que reunió 7 estaciones ubicadas entre Seno Ventisquero (M40) hasta Puerto Eugenia (M46), con una (ARPM) de 6,9 presentada en el mes de diciembre 2018 y una similitud promedio de 73,4. El grupo **ac** reunió 6 estaciones ubicadas entre Punta Calquemán (A18) hasta Puerto Lampazo (A39), con una ARPM = 6,1 presentada en el mes de diciembre 2014 y una similitud promedio de 77,1. El grupo **aa**, reunió 6 estaciones, ubicadas entre Isla Manuel (A15) e Isla San Andrés (A22), todas ubicadas en la zona de Aysén Norte, presentando una ARPM = 7,8 en enero 2017 presentando una similitud promedio de 81,2. El resto de grupos formados presentan menos de 6 estaciones por grupo donde la gran mayoría están formados por cuatro o menos estaciones por lo que su análisis es bastante complejo.

En cuanto a la serie temporal para esta especie (Fig. 5.3.11), lo primero que podemos observar que es una especie que tiene una distribución espacial muy amplia, ya que se encuentra en niveles de AR altos en las 9 zonas desde Chiloé Norte en la región de Los Lagos hasta la zona del canal Beagle en Magallanes Sur. En la región de Los Lagos esta especie muestra algunos patrones estacionales hasta el año 2012 marcados por máximos entre los meses de diciembre y marzo, sin embargo, esta tendencia se quiebra desde el año 2012 en adelante donde no se puede apreciar algún patrón estacional definido. Algo que, si se puede observar, es la leve tendencia al incremento en los niveles de AR en las tres zonas de la región de Los Lagos a partir del año 2012.

Un patrón estacional mucho más marcado se puede apreciar en la zona de Aysén Norte y Sur donde se observan incrementos en los periodos de verano, los cuales, al igual a las zonas de la Región de Los Lagos han ido en incremento desde el año 2012 en adelante alcanzando cada verano niveles máximos de AR que oscilan entre 6 y 9 e incluso en algunos casos sobrepasando la escala, llegando a nivel 10. La zona de Tortel, al igual que en las especies anteriores nuevamente no presenta un patrón estacional definido, sin embargo, podemos observar un fuerte incremento en los niveles de AR a partir del año 2015 en adelante alcanzando niveles de 9 en enero del 2019.

La región de Magallanes es bastante dispar en sus resultados, ya que la zona norte no presenta una estacionalidad definida durante toda la serie de tiempo niveles de AR relativamente con máximos entre 5 y 6. Es importante mencionar que se aprecia un leve aumento en los niveles de AR a partir del año 2012. Mismo aumento que podemos observar en la zona de Magallanes Centro, pero con niveles de AR mas altos (entre 4 y 8), después del cual se puede apreciar una cierta tendencia a tomar un comportamiento estacional, con aumentos significativos durante los meses de verano. Por ultimo La zona de Magallanes Sur peseta nuevamente una marcada estacionalidad durante los meses de verano, la cual, al igual que las zonas anteriores se ha incrementado a partir del año 2012 en adelante.

Dinophysis acuta

La figura 5.3.12 muestra el análisis de ordenación por el método de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) para los datos puntuales de *D. acuta* en términos de abundancia relativa para el periodo



comprendido entre octubre del 2007 a febrero del 2019. Una mirada general nos muestra la separación de las tres regiones administrativas (Los Lagos, Aysén y Magallanes), con una alta heterogeneidad en la la región de Aysén (Fig. 5.3.12a). Para la región de Los Lagos se puede apreciar la segregación de estaciones en dos grandes zonas (Chiloé norte-centro y Chiloé sur), donde un grupo concentró gran cantidad de estaciones comprendidas entre la zona norte y centro de la región (grupo w), mientras que, para la zona sur, se observaron dos grupos (grupos y, z) (Fig. 5.3.12b). En la región de Aysén, se observó una gran cantidad de grupos y cada uno de ellos, agrupo poca cantidad de estaciones, sin embargo, para la zona sur de Aysén, se observaron pocos grupos, pero cada uno de ellos, concentro una mayor cantidad de estaciones de acuerdo a la similitud en base a su AR y escala temporal (grupo e y l). Finalmente, las estaciones localizadas en la zona de Tortel, segregaron en un sólo grupo (Fig. 5.3.12c). Para la región de Magallanes, se observaron dos grupos en la zona norte (grupo aa y am), un gran grupo para las estaciones de la zona de Magallanes centro y sur (grupo ai) (Fig. 5.3.12d).

Haciendo un análisis más profundo se puede apreciar la conformación de un total de 41 grupos de estaciones con un porcentaje promedio de similitud (SIMPROF) mayor a 70. Del total de grupos, 7 están en la región de Los Lagos, 26 en Aysén, 6 en Magallanes, 1 grupo que abarco estaciones de la región de Los Lagos y Magallanes, y un grupo con una estación en Chiloé sur y otra en Aysén norte. De los 41 grupos, el análisis segregó de forma independiente un total de 17 grupos representados sólo por una estación (3 para Los Lagos, 12 para Aysén y 2 para Magallanes). Por otra parte, los grupos segregados con un mayor número de estaciones, fueron el grupo **ai** que reunió 28 estaciones de dos regiones, siendo 8 estaciones pertenecientes a la zona norte de Chiloé (estuario y seno de Reloncavi), y 20 estaciones distribuidas entre la zona centro y sur de Magallanes con una ARPM = 0,18 presentada en el mes de noviembre 2013. El grupo **w** reunió 21 estaciones ubicadas a lo largo de la región de Los Lagos, distribuidas entre bahía Ilque (L04N2) hasta isla San Pedro (L23), con una ARPM = 6,86 presentada en el mes de enero 2018. El grupo **e**, reunió 11 estaciones, ubicadas entre canal Pilcomayo (A42) e isla Rojas-Paso Tres Cruces (A54), todas ubicadas en la zona de Aysén sur, presentando una ARPM = 9 en marzo 2018. El grupo **am**, reunió 10 estaciones ubicadas entre isla Morton (M01N) y estero Ringdove (M25N), todas ubicadas en la zona de Magallanes norte, presentando una ARPM = 3,6 en abril 2017. Estos cuatro grupos, representan el 48,6% del total de las estaciones distribuidas entre la región de Los Lagos a Magallanes.

La figura 5.3.13, nos muestra el análisis de la serie temporal completa para los promedios de las estaciones de los 9 diferentes sectores, comprendidas entre el periodo de octubre 2007 a febrero de 2019 para los datos de abundancia relativa de *D. acuta*. En la región de Los Lagos se observa la presencia de esta especie, la cual presento un incremento entre abril 2017 hasta abril 2018 en las tres zonas de la región. Sin embargo, en años anteriores, se registró escasamente este dinoflagelado. De esta forma, en la zona de Chiloé norte, estuvo ausente entre octubre 2007 hasta marzo 2017, registrando desde abril 2017 a abril 2018, niveles de abundancia relativa entre 0 a 4, para registrar nuevamente AR =0 hasta febrero 2019. Para la zona de Chiloé centro, se observó un patrón muy similar a lo descrito en la zona de Chiloé norte hasta marzo 2017, excepto por algunos meses con AR=1 durante este periodo; sin embargo, desde abril 2017 hasta abril 2018, se observó un aumento en su AR, alcanzando valores muy superiores a los registrados (AR=7), declinando hasta febrero 2019. En la zona



de Chiloé sur, la abundancia relativa presentada hasta marzo 2012 fue igual a 0, presentando entre abril 2012 hasta marzo 2017 valores entre 0 a 1, y desde abril 2017 hasta agosto 2018 valores de AR entre 1 a 6, disminuyendo hasta febrero 2019. En la región de Aysén, se observa un registro de esta especie desde octubre 2007 hasta febrero 2019, con abundancias relativas que van entre los 0 a 8. En la zona norte de Aysén, las mayores AR se presentan entre los meses de enero a mayo, con AR entre los 0 a 5, las cuales han presentando los valores más altos a partir del 2012 en adelante. Para la zona sur de Aysén, si bien las mayores AR se presentan en el primer semestre de cada año (al igual que la zona norte), se ha observado un aumento desde el 2013, alcanzando AR entre 4 a 9. En la región de Magallanes, se observaron bajos valores de abundancia relativa para este dinoflagelado desde octubre 2007 hasta febrero 2019. En la zona norte de Magallanes, se presentaron pequeñas fluctuaciones entre 2010 a 2012, con valores de AR que no sobrepasaban los valores de 1, sin embargo, entre los años 2013, 2016 y 2017, las AR alcanzaron algunos peaks de AR=3. Para la zona centro y sur de Magallanes la presencia de esta especie es casi nula.

Protoceratium reticulatum

El análisis de ordenación por el método de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) nos muestra un patrón similar a los encontrados en las demás especies, con una marcada separación entre las tres regiones administrativas (Los Lagos, Aysén y Magallanes), mostrando nuevamente estos grandes patrones tanto espaciales como temporales característicos de cada una de las regiones que encontramos en casi todas las especies nocivas (Fig. 5.3.14a). Sin embargo, al observar con más detalle estos tres grandes grupos, esta diferenciación se torna difícil de interpretar dada la gran cantidad de sub-grupos que se forman, agrupándose en pequeños conglomerados que no reúnen más de 9 estaciones. A pesar de esto, dentro de cada una de estas grandes regiones se pueden observar algunos patrones característicos. Para la región de Los Lagos se puede apreciar la segregación de estaciones las cuales se separan en dos zonas; estuario y Seno de Reloncaví (Chiloé Norte), zona de Chiloé Centro, Zona de Chiloé Sur (Fig. 5.3.14b). Para la región de Aysén podemos observar la diferenciación de cuatro grandes zonas; Raúl Marín Balmaceda, algunas estaciones alrededor de la zona de Melinka, canal Puyuhuapi-Jacaf, zona de Aysén Sur y la zona de Tortel, a esto se suma un grupo de estaciones de la zona del Seno y Estuario Reloncaví, las cuales segregaron más cerca de las estaciones del norte de Aysén (Fig. 5.3.14c). Finalmente podemos dividir la región de Magallanes en cuatro grandes zonas; dos en Magallanes Norte la primera desde Isla Norton hasta Estero Ringdove y la segunda desde Isla Figueroa (M12) hasta Isla Larga (M20), canal Beagle y algunas estaciones de la zona centro desde bahía Bell (M33) a Puerto Zenteno (M39) (Fig. 5.3.14d).

El análisis de conglomerados para esta especie permite apreciar la conformación de 48 grupos de estaciones con un porcentaje promedio de similitud (SIMPROF) mayor a 70. Del total de grupos, 17 están en Los Lagos, 20 en Aysén y 11 en Magallanes. De los 48 grupos, el análisis segregó de forma independiente un total de 15 grupos representados sólo por una estación (4 para Los Lagos, 7 para Aysén y 4 para Magallanes). Por otra parte, los grupos segregados con un mayor número de estaciones, fueron el grupo **j** que reunió 9 estaciones ubicadas entre Isla Laitec (L20) hasta Isla Guapiquilán 2 (L24N1), con una (ARPM) de 2,9 presentada en el mes de febrero 2013 y con una similitud promedio de 54,9. El grupo **au** reunió 9 estaciones ubicadas entre isla Sierra (A35) hasta canal Ninualac (A41),



con una ARP = 8,3 presentada en marzo 2009. El grupo *n*, reunió 7 estaciones, entre isla Morton (M01N) e isla Crossover (M07), todas en Magallanes norte, presentando una ARP = 5,14 en febrero 2018. El grupo *m*, reunió 7 estaciones ubicadas entre seno Ventisquero (M40) y Puerto Eugenia (M46), todas ubicadas en Magallanes sur, presentando una ARP = 6,6 en enero 2013. Estos cuatro grupos, representan el 22% del total de las estaciones distribuidas entre la región de Los Lagos y Magallanes.

El análisis de la serie de tiempo completa (Fig. 5.3.15) nos muestra la variación temporal de esta especie en cada una de las 9 zonas, donde podemos observar que en la zona de Chiloé Norte no se aprecia un patrón estacional claro a lo largo de la serie de tiempo, lo cual cambia el año 2014 en adelante donde hubo un aumento en las AR las cuales se mantuvieron hasta el año 2017 observándose un patrón estacional. Luego de esto, nuevamente la AR baja a niveles mínimos (rangos de AR entre 0 y 1), similares a los observados antes del año 2012. También se puede apreciar la una baja contribución durante los años 2011 hasta principio del año 2014 durante los cuales el nivel de AR no supero el nivel 2. Las zonas de Chiloé Centro y Sur tampoco presentan un patrón estacional definido, mostrando niveles de AR máximos relativamente bajos los cuales no superan el nivel 4, pudiéndose encontrar estos niveles, tanto en periodos de verano, como en otoño-invierno. Es importante mencionar que en ambas zonas los niveles de AR comienzan a incrementar a partir del año 2011, observándose ausencia de la microalga o una presencia mínima durante el periodo comprendido entre los años 2007 al 2011.

Una situación totalmente distinta encontramos en las zonas de Aysén Norte y Sur, donde al igual que la mayoría de las otras especies podemos observar un claro patrón estacional con niveles máximos entre 6 y 8 en la escala de AR, los cuales comienzan los meses de enero y pueden extenderse hasta el mes de abril donde comienzan a decaer nuevamente. La zona de Tortel nuevamente no presenta patrones estacionales definidos teniendo años donde la microalga se presenta en forma ocasional, o presentando niveles muy bajos por periodos largos de tiempo o simplemente desapareciendo algunos años.

En la zona de Magallanes nos encontramos con diferencia entre las tres zonas, comenzando con Magallanes Norte donde no se observan patrones estacionales y las abundancias encontradas son muy bajas con niveles máximos que no superan en nivel 2 de AR. Cabe destacar la casi nula presencia de la microalga en el periodo anterior al año 2012. La zona de Magallanes Centro muestra un leve patrón estacional en el periodo de verano entre los años 2012 y 2017, luego del cual la microalga prácticamente desaparece o tiene muy poca presencia en la zona. Nuevamente, y al igual que la zona Norte, se observa la escasa o nula presencia de *P. reticulatum* durante el periodo comprendido entre los años 2007 y 2012. Caso aparte es el que podemos apreciar en la zona Sur de Magallanes donde la microalga muestra una escasa o casi nula presencia durante toda la serie de tiempo.

Actividad 2. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

Los resultados al evaluar las relaciones de las abundancias relativas de los cinco taxones de dinoflagelados considerados, *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, corresponden a las correlaciones de las abundancias de los taxones en el conjunto de localidades de muestreo para datos recogidos entre octubre de 2007 y febrero de 2019 (n=146) y, de las abundancias de los taxones en el tiempo, consideradas por estaciones del año, para



el lapso octubre 2007 - diciembre 2018 (n=45). La informaci3n fue analizada tambi3n mediante an3lisis de conglomerados tanto en el espacio como en el tiempo, considerando adem3s los resultados logrados con las correlaciones entre taxones, los cuales fueron representados gr3ficamente para hacer m3s instructiva la presentaci3n. Los resultados se presentan en las figuras 5.3.16-5.3.31 y cuadros 10 y 11.

Al tratar los datos en funci3n del espacio, de las diez relaciones posibles entre los cinco taxones considerados, hubo al menos 4 situaciones en que los gr3ficos de dispersi3n muestran una buena correspondencia entre las variaciones de ambas variables (Fig. 5.3.16), lo cual se aprecia en las estimaciones significativas del 3ndice de Pearson, entre *Dinophysis acuta* vs *Protoceratium reticulatum* ($r=0,881$), *Alexandrium catenella* vs *D. acuta* ($r=0,753$), *D. acuminata* vs *P. reticulatum* ($r=0,610$) y *Alexandrium catenella* vs *P. reticulatum* ($r=0,609$) (Cuadro 9), lo cual refleja, que ocurren variaciones en un mismo sentido, de la abundancia en el espacio. Las dos primeras correlaciones muestran valores altos para relaciones de esta naturaleza y *P. reticulatum* est3 en tres de las correlaciones significativas, en tanto que *A. catenella* y *D. acuta*, lo estuvieron en dos, y el 3nico tax3n que no mostr3 ninguna correlaci3n significativa fue *A. ostensfeldii*; la 3nica relaci3n negativa, pero con un estimador muy bajo y no significativo la presentaron *A. catenella* y *D. acuminata*.

Cuadro 10. Correlaciones entre las sumatorias de las abundancias relativas de *Alexandrium catenella* (Ac), *A. ostensfeldii* (Ao), *Dinophysis acuminata* (Dacum), *D. acuta* (Dacut) y *Protoceratium reticulatum* (Pr) (n=146) ordenadas por sitios de muestreo (n=146).

	Ac	Ao	Dacum	Dacut	Pr
Ac					
Ao	0,08052555				
Dacum	-0,02793690	0,34307332			
Dacut	0,75275532	0,20158871	0,38601066		
Pr	0,60913756	0,16663571	0,60958440	0,88114043	

Los resultados del an3lisis de conglomerados aplicado a las abundancias relativas de los cinco taxones distribuidas entre los 146 sitios de muestreo se presentan en la figura 5.3.17. Se aprecia que se conforman 19 conglomerados, y que no obstante que en cada regi3n administrativa se distinguen varios de conglomerados de menor tama1o en cuanto a cobertura geogr3fica, los conglomerados conformados reflejan la segregaci3n de los sitios de muestreo por regi3n administrativa, y dentro de cada una de ellas, n3cleos distintivos, siendo la regi3n de Ays3n, la que present3 el conjunto m3s compacto de sitios de muestreo; pero la ordenaci3n de 3stos refleja apropiadamente, por ejemplo, de aquellos en el estuario de Reloncav3 u otros sectores localizados en la regi3n de Los Lagos, o un grupo de sitios en el canal Beagle, en el sector sur de la regi3n de Magallanes. La ordenaci3n de los sitios se origina seg3n la distinta relevancia de la abundancia de los cinco taxones considerados, por ejemplo, en la regi3n de Ays3n en un determinado sector son m3s importantes *Protoceratium reticulatum* y *Dinophysis acuta*, en cambio en otro sector de esta regi3n lo son *Alexandrium catenella* y *D. acuminata*, y en menor grado *A. ostensfeldii*; en cambio en la regi3n de Los Lagos, en el estuario de Reloncav3 son *D. acuminata*, *A. ostensfeldii* y *P. reticulatum*, en cambio en el sector central de esta regi3n *D. acuminata* y *A. ostensfeldii*, mostrando claramente que *A. catenella* no tiene relevancia en dichos sectores, lo cual es diferente en



la región de Magallanes, en que esta especie está presente, pero tiene una menor abundancia que en la observada en la región de Aysén, al igual que los otros taxones que definen núcleos en esta región, como *D. acuminata* y *P. reticulatum* (Fig.5.3.18).

Al considerar cada taxón por separado y su importancia relativa según la ordenación entregada por el análisis de conglomerados, se aprecia que *A. catenella* es más importante en la región de Aysén, tanto el sector norte como el sector sur, aunque con núcleos distintivos, en tanto que también es relevante en el sector norte de la región de Magallanes, incluso se distingue un grupo pequeño de dos sitios de muestreo en el extremo norte de esta región, sitios que segregan muy cercanamente a los sitios de Tortel que geográficamente también están ubicados al sur del Golfo de Penas, y también es evidente Isla Ballesteros (A23) que está ubicada muy al este en los fiordos magallánicos con mayor influencia glacial y agua dulce, y que habitualmente no presenta a este taxón, ya que en los sectores centro y sur de Magallanes, si bien está presente, presenta una abundancia más baja; en la región de Los Lagos, es mucho menos importante, particularmente en el sector norte (Chiloé norte) y centro (Chiloé centro), pues en el sector sur, particularmente en años de floración, este taxón incrementa su abundancia durante primavera verano, en especial en esta última estación, si bien está presente en bajas abundancias durante todo el año (Fig. 5.3.19). En cuanto a *A. ostentfeldii*, este es un taxón que presenta una de las abundancias más bajas de todos los taxones estudiados, siendo más importante en la región de Aysén, en todos sus sectores, al igual que en la región de Los Lagos, presentando una importancia intermedia, en cuanto a su abundancia, ya que en la región de Magallanes esta especie es más abundante en su sector norte (provincia de Última Esperanza), ya que en el sector centro y sur, si bien está presente, sus abundancias son más bajas (Fig. 5.3.20, superior).

Las especies de *Dinophysis* presentan abundancias distintas, siendo más altas aquellas de *D. acuminata* (Figs. 5.3.20, inferior: 5.3.21, superior). Las abundancias más altas se presentan en la región de Aysén, en especial en el sector norte de esta región, al igual que en determinados sectores de la región de Los Lagos, pero en general las abundancias son intermedias, y las más bajas se registraron en la región de Magallanes, con una abundancia intermedia en el área norte de esta región, pues en los otros sectores éstas son las más bajas de toda el área de estudio. Para *D. acuta* si se contrastan los resultados de ambas figuras, no sólo son evidentes las diferencias en abundancia relativas entre ambas regiones, sino que además la mayor importancia cuantitativa de esta especie se presenta en Aysén norte, ya que en los otros sectores de esta región, como en el área norte de Magallanes y parte de la región de Los Lagos, esta especie presenta una abundancia intermedia, pero más bien baja, y está virtualmente ausente, en determinados sectores de Los Lagos (e.g. Reloncaví) y sectores centro y sur de la región de Magallanes.

Finalmente, para *P. reticulatum* las mayores abundancias, aunque inferiores a *D. acuminata*, se presentan en la región de Aysén, dado que, en Los Lagos, con algunas excepciones, presenta abundancia intermedia (e.g. Bahía Ilque), y los otros sectores como Tortel de la región de Aysén y aquellos de la región de Magallanes, presentan abundancias bajas o muy poco importantes, como ocurre en Magallanes centro (Fig. 5.3.21, inferior).



Al considerar las abundancias, según la segregación entregada por el análisis de conglomerados, para aquellos taxones que mostraron las mayores correlaciones espaciales, como *P. reticulatum* vs *D. acuta*, se advierte que ambas tienen una mayor importancia relativa en la región de Aysén, siendo en determinados casos más importante *D. acuta* que *P. reticulatum*, como ocurre también de manera ocasional en la región de Los Lagos (Hueihue), pero en general aunque las abundancias son más bajas, el taxón más abundante es *P. reticulatum*, pues en la región de Magallanes, además que ambas especies presentan notoriamente menores abundancias, las más bajas de toda el área de estudio, en esta región también es más importante, *P. reticulatum*, pues *D. acuta*, presenta abundancias muy bajas o está casi ausente en los sectores centro y sur de esta región (Fig. 5.3.22, superior).

Para el segundo par de especies que presentaron correlación significativa entre sus abundancias, *A. catenella* vs *D. acuta*, si bien ambas presentan una abundancia relativa total similar a las dos especies recién señaladas, la ordenación que entrega el análisis de conglomerados, y las abundancias estimadas para estos taxones, muestran claramente que la segunda de estas especies en la región de Magallanes tiene escasa o ninguna relevancia, dado que *A. catenella* es la que caracteriza esta región, en tanto que en la región de Aysén, nuevamente las abundancias más altas, para ambos taxones se expresan en esta región en todos sus sectores, ya que en la región de Los Lagos, hubo sitios de muestreo que mostraron una muy baja abundancia de estos taxones, incluso inferiores a aquella señalada para la región de Magallanes, pero en líneas generales la importancia de ambos taxones es menor que aquella indicada para la región de Aysén, y siendo *A. catenella*, en términos relativos, más importante que *D. acuta*, no obstante la importancia que toma en determinados sectores localizados en esta región, ubicados en Magallanes norte (Fig. 5.3.22, inferior).

Para los dos pares de taxones que mostraron las correlaciones significativas más bajas, *P. reticulatum* vs *D. acuminata* y *A. catenella* vs. *P. reticulatum*, en lo general la situación sigue mostrando la mayor importancia relativa de la región de Aysén, en que se registran las estimaciones más altas, y se aprecia además una segregación de conglomerados, en los que, en determinados sectores es más importante *P. reticulatum*, como en Aysén norte, lo cual es opuesto a lo que se observa en Aysén sur, en que esta última especie tiene mayor importancia relativa; para la región de Los Lagos hay sectores en que *P. reticulatum* es definitivamente más importante que *A. catenella*, en especial en los sectores norte y centro de esta región, dado que esta última especie sólo ha adquirido una mayor importancia a partir de 2016, pero no está presente de manera permanente todo el año, lo cual es distinto en Chiloé sur, en que es más importante *A. catenella*, tanto por presencia como por la abundancia durante fines de primavera y meses de verano, particularmente en años en que ocurren floraciones de esta especie; en la región de Magallanes, *A. catenella* tiene mayor importancia en todos los sectores en que se ha dividido esta región, pero es más abundante en el sector norte, seguida del sector sur (canal Beagle), dado que en el sector del Estrecho de Magallanes y áreas adyacentes como seno Otway, presenta una menor abundancia (Fig. 5.3.22, superior).

Para el otro par de especies, *A. catenella* vs. *P. reticulatum*, también con correlación significativa, similar al par antes analizado, la abundancia de esta última especie es inferior a *D. acuminata*, señalada en el párrafo previo, lo cual es el resultado de las abundancias observadas en la región de Aysén, aunque en



algunos sectores, los menos, *P. reticulatum* tiene una mayor relevancia que *A. catenella*, pues en la mayoría de los sectores es más importante esta última, en Los Lagos, *A. catenella* tiene una muy baja abundancia en Chiloé norte y centro, sectores en los que *P. reticulatum* es más importante, especialmente en el primero de los sectores, observándose también una disminuci3n de la abundancia con la latitud, lo cual es muy manifiesto en Magallanes para ambos taxones, aunque *A. catenella*, si bien presenta menores abundancias respecto a Aysén, en Magallanes centro, este tax3n, como ha sido seálado, es importante en Magallanes norte, y en menor grado en Magallanes sur; dado que en las estaciones de Magallanes centro *P. reticulatum*, es más importante (Fig. 5.3.23, inferior).

Al aplicar un análisis de conglomerados entre taxones según sus abundancias relativas, en funci3n del espacio (por sitio de muestreo), segregan cuatro conjuntos, 3 representados por especies solas y uno constituido por *P. reticulatum* y *D. acuta*, grupo que es concordante con el par de taxones con la mayor correlaci3n positiva, *A. ostenfeldii* muestra un comportamiento temporal, espacial y niveles de abundancia que explican que segregue muy alejado de los otros cuatro taxones, no obstante que el dendrograma muestra que el tax3n más alejado es *D. acuminata*, que presenta una persistencia espacial y niveles de abundancia que explican este resultado (Figs. 5.3.24, superior e inferior).

Al analizar la informaci3n entre pares de taxones, pero ahora considerando el tiempo, representando a las variaciones de la abundancia, pero entre estaciones del aío para los cinco taxones considerados, los resultados se presentan en la figura 5.3.25 y cuadro 11. De manera similar al tratar el mismo tipo de informaci3n, pero entre sitios de muestreo, en este caso también ocurren correlaciones positivas significativas, si bien ahora no se alcanzaron valores tan altos del índice de Pearson, éstos fueron estimaciones importantes para el tipo de informaci3n analizada; y hubo más correlaciones positivas, siete significativas de 10 posibles. Todos los taxones presentaron correlaciones positivas y el tax3n que presentó la mayor cantidad de correlaciones significativas (4) fue *D. acuminata*, reflejando cambios en el tiempo en la abundancia, concordantes a los registrados en los otros tres taxones, y por otro lado, el tax3n que mostr3 sólo una correlaci3n con otra especie, fue *A. ostenfeldii*, mostrando que esta especie presenta una dinámica temporal en la abundancia distinta y no concordante con los otros tres taxones. En orden de mayor a menor, según el valor tomado por el índice de Pearson, estas correlaciones significativas fueron las siguientes, *D. acuminata* vs *D. acuta* ($r=0,792$), *P. reticulatum* vs *D. acuta* ($r=0,744$), *A. catenella* vs *D. acuta* ($r=0,700$), *P. reticulatum* vs *D. acuminata* ($r=0,694$), *D. acuminata* vs *A. ostenfeldii* ($r=0,691$), *A. catenella* vs *P. reticulatum* ($r=0,690$) y *D. acuminata* vs *A. catenella* ($r=0,679$).

Cuadro 11. Correlaciones entre las sumatorias de las abundancias relativas de *Alexandrium catenella* (Ac), *A. ostenfeldii* (Ao), *Dinophysis acuminata* (Dacum), *D. acuta* (Dacut) y *Protoceratium reticulatum* (Pr) ordenadas por estaciones del aío (n=45) para el período octubre 2007 y diciembre 2018.

	Ac	Ao	Dacum	Dacut	Pr
Ac					
Ao	0,16552122				
Dacum	0,67911646	0,69101816			
Dacut	0,70020167	0,44452411	0,79285981		
Pr	0,69000462	0,28628755	0,69454895	0,74463018	



La ordenación que resulta de las distintas estaciones del año según las abundancias relativas de los cinco taxones considerados, al aplicar un análisis de conglomerados, tanto en el dendrograma como en el gráfico MDS, se aprecian claramente 5 conglomerados conformados por conjuntos entre 6 y 11 periodos estacionales (Fig. 5.3.26). De la conformación de estos grupos se pueden distinguir dos conjuntos, uno representado por dos conglomerados, inviernos y otoños 2008-2011 + primavera 2011 (grupo a) y primaveras 2007-2012 (no 2011) + veranos 2008-2012 (grupo e); y otro conjunto representado por también por 2 conglomerados, primaveras 2013-2018 + otoños 2013-2017 (no 2015) + verano 2013 (grupo c) y veranos 2014-2018 + otoño 2018 (grupo b), siendo los inviernos 2012-2018 + otoño 2015 (grupo d) el conglomerado de transición, entre ambos conjuntos. El primer conjunto representa un período con abundancias más bajas, en tanto que el segundo está asociado a abundancias más altas.

Las diferencias indicadas se aprecian más claramente en la representación gráfica de las abundancias de los cinco taxones por periodos estacionales considerados, ya que desde la primavera de 2010 o 2011 las abundancias son más altas, destacando *D. acuminata*, *A. catenella* y *P. reticulatum* (Fig. 5.3.27).

Cuando se analiza la información por pares de taxones que presentaron correlaciones significativas, de mayor a menor, según sus respectivos aportes por periodo del año, el primer par de taxones corresponde a *Dinophysis*, *D. acuta* y *D. acuminata*, las abundancias más altas las presentó la segunda de estas especies, siendo notoriamente más altas durante el periodo indicado de abundancias más altas, que corresponden a la primavera y verano desde 2013 en adelante, siendo más marcado en los últimos dos años analizados, en tanto que las estimaciones más bajas fueron observadas para estos taxones en invierno y otoño de 2008 hasta 2011 (Fig. 5.3.28). El segundo par de especie con correlaciones significativas corresponde a *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, que mostraron una contribución similar a la descrita para el primer par de taxones, siendo más importante por su abundancia *P. reticulatum*, con las estimaciones más altas durante las primaveras y veranos de los últimos años considerados, 2017-2018 (Fig. 5.3.29, superior). El tercer par de taxones con correlaciones significativas fueron *Alexandrium catenella* y *D. acuta*, que ratifican lo indicado para los taxones previamente descritos, siendo más importante desde el punto de vista de su abundancia, *A. catenella*, también para los mismos periodos indicados, en años recientes, durante primavera y verano (Fig. 5.3.29, inferior). El cuarto par de taxones está representado por *D. acuminata* y *P. reticulatum*, los resultados son similares a los indicados para los pares de taxones previamente descritos, siendo en este caso el taxón más abundante, *D. acuminata* (Fig. 5.3.30, superior). Los pares de taxones restantes, el quinto, *Alexandrium ostenfeldii* y *D. acuminata*, corresponde al único en que está *A. ostenfeldii*, mostrando un comportamiento temporal de la abundancia similar a lo señalado previamente, siendo *D. acuminata* más importante por su abundancia (Fig. 5.3.30, inferior). Los últimos dos pares de taxones corresponden a *A. catenella* vs *P. reticulatum* y *A. catenella* vs *D. acuminata*, que muestran también una mayor importancia durante primavera verano de los últimos años, siendo en el primer par, más abundante *A. catenella* y en el segundo, *D. acuminata* (Fig. 5.3.31, superior e inferior, respectivamente).



Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

La evaluación de la probabilidad de la presencia de los taxones nocivos a diferentes profundidades reveló que todos tuvieron una mayor y significativa probabilidad de ser detectados en el estrato 0-10 en comparación con el estrato 10-20 m (Tablas 3.1 y 3.2). Además, fue el factor que contribuyó en menor medida a explicar la variación de la presencia de las especies, con excepción de *A. ostenfeldii* (Tabla 3.1). Similarmente, al graficar las abundancias medias, estas fueron consistentemente mayores, o algunas veces iguales, en el estrato de 0-10 en comparación con el de 10-20 m (Figs. 5.3.32 - 5.3.34).

Respecto a la zona, se observaron diferencias significativas en la probabilidad de detectar la presencia especies nocivas en cada una de ellas (Tablas 3.1 y 3.2). Este factor, además, fue el tercero en relevancia para explicar la variación de la presencia de los taxones (Tabla 3.1). El test a posteriori reveló que *A. catenella* tuvo una mayor probabilidad de presencia en la Zona de Melinka y menor en Chiloé Sur y RMB (Tabla 3.2), patrón concordante al de la abundancia media y AR (Fig. 5.3.33). *A. ostenfeldii*, tuvo una mayor presencia en RMB, pero también en Melinka (Tabla 3.2). Tanto *D. acuta* como *D. acuminata* en general mostraron una mayor pb de presencia en RMB y una menor en Chiloé Sur (Tabla 3.2 y Fig. 5.3.34). Finalmente, *P. reticulatum* tuvo una mayor probabilidad de presencia en Melinka (Tabla 3.2).

El año también mostro diferencias significativas para la probabilidad de presencia para casi todas las especies con excepción de *A. ostenfeldii* (Tablas 3.1 y 3.2). El año fue el segundo factor que en general explico la mayor proporción de la variación de la presencia de las especies nocivas (Tabla 3.2). El test a posteriori reveló que el 2016 se generó una mayor significativa probabilidad de detectar la presencia de todas las especies, en particular de *A. catenella*, *D. acuminata* y *P. reticulatum* (Tabla 3.2).

La evaluación del factor mes reveló que existen rangos de tiempo en que las especies nocivas tienen una mayor y significativa probabilidad de ser detectadas, con excepción de *A. ostenfeldii* (Tabla 3.1 y 3.2). Así, el test a posteriori mostró que la mayor probabilidad de detectar a *A. catenella* es entre diciembre y abril con un máximo en febrero (Tabla 3.2). Este patrón temporal además coincide con la probabilidad de estar en altos niveles de AR como se observa en la figura 4. Aun cuando *A. ostenfeldii* no mostró diferencias en la pr de presencia a través de los meses se observa una tendencia a incrementar su abundancia y AR en enero (Tabla 3.2; Figs. 5.3.32 y 5.3.35).

Para *D. acuminata*, se observó una mayor probabilidad de ser detectada entre noviembre y marzo (Tabla 3.2). En tanto que *D. acuta* mostró una mayor presencia entre enero a mayo (Tabla 3.2). Finalmente, *P. reticulatum* mostró una mayor probabilidad en enero y febrero (Tabla 3.2). Estos patrones, además, coincidieron con una alta abundancia y AR (Figs. 5.3.32 y 5.3.35).

Por otro lado, la evaluación de la probabilidad de estar en altos niveles del índice de AR para las estaciones, mostro diferencias entre estas. Además, se observó que existen algunas estaciones que consistentemente tienen altos valores para distintas especies. De esta forma, al sumar la probabilidad de estar entre los niveles de AR de 5 a 10 para *A. catenella*, se observó que las estaciones A02, A04, A05 y A34 presentaron altas pb en un rango de 0,137 a 0.184, y fueron estaciones pertenecientes a la



zona de Melinka (Fig. 5.3.36). Estas estaciones fueron seguidas por las A04N1 y A11N1 pertenecientes al Canal Moraleda con un 0,082 y 0,105 de probabilidad, respectivamente. Entre las que tuvieron una menor probabilidad de alcanzar altos valores AR se encontraron las estaciones L18, A06, A08N1, etc, con valores en un rango de 0,016 a 0,022 de pb (Fig. 5.3.36).

Para *A. ostentfeldii* la sumatoria de la probabilidad de estar entre niveles de AR de 5 a 9 mostró altas valores para las estaciones de A06 y A08, ambas con valores de 0,092 y pertenecientes a RMB. Las estaciones de A02 y L19N4 pertenecientes a Melinka y El Golfo del Corcovado (sur de Chiloé) mostraron valores intermedios con probabilidad de 0,054 y 0,058 respectivamente. En tanto que los valores más bajos se observaron en las estaciones L19 y L24 pertenecientes al sur de Chiloé con valores de 0,011 y 0,005 respectivamente (Fig. 5.3.36).

En *D. acuminata* las estaciones A06, A07 y A08, ubicadas en RMB, mostraron la mayor probabilidad de presentar índices entre 5 y 9, con valores en un rango de 0,464 y 0,579. Las estaciones A05, A34 y L19N2 pertenecientes a Melinka y sur de Chiloé respectivamente mostraron valores intermedios, en un rango de 0,288 y 0,340. Los valores más bajos de probabilidad se observaron en las estaciones de L23 y L24 pertenecientes al sur de Chiloé con valores de 0,146 y 0,152 respectivamente (Fig. 5.3.36).

D. acuta mostró una mayor probabilidad de alcanzar niveles de AR entre 5 y 9 en la estación de A06 de ubicada en RMB con una pb de 0,286. En las estaciones A05, A07, A08 y A34 se observaron valores intermedios en un rango de 0,086 y 0,146. Los valores más bajos fueron observados consistentemente en todas las estaciones del sur de Chiloé en un rango de probabilidad entre 0,000 a 0,005 (Fig. 5.3.36).

Por su parte la mayor probabilidad de estar entre un nivel 5 y 9 para *P. reticulatum* fue observada en las estaciones de A05, A34 con valores de 0,103 y 0,124 respectivamente. Estas estaciones pertenecen a la zona de Melinka. En tanto que valores intermedios se observaron en las estaciones A02, A04 y A11N1, también de la zona de Melinka y una del Canal Moraleda, con valores de probabilidad en un rango entre 0,064 a 0,075. Finalmente, los valores más bajos de probabilidad se observaron en las estaciones pertenecientes al Sur de Chiloé y las estaciones interiores de RMB con valores en un rango de 0,000 a 0,005 (Fig. 5.3.36).

Actividad 4. Análisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo en la capa superficial (0-10 mts) y capa subsuperficial (10-20 mts).

Ensamblajes de fitoplancton en estrato superficial (0-10m) y sub-superficial (10-20m)

Correlaciones entre ambos estratos para los promedios anuales del fitoplancton total.

En la figura 5.3.37a se muestran los promedios anuales de la abundancia (cel L⁻¹) de la etapa XII (periodo 2018-19) por cada estación de muestreo del total de diatomeas para ambos estratos y la correlación entre ambos. Para el caso de las 3 regiones administrativas no se observa una correlación clara entre los dos estratos, debido a la dispersión que existe en algunas estaciones de muestreo lo que



hace que el ajuste sea bajo. Sin embargo, de las tres regiones, Magallanes es la que presenta una mayor homogeneidad de datos entre las dos capas presentando una mejor correlación ($r^2=0.44$, $p<0.05$) (aunque aún sigue siendo baja), mientras que en la región de Los Lagos observamos la correlación más baja ($r^2=0.14$, $p<0.65$). Similar resultado encontramos para el caso de dinoflagelados (Fig. 5.3.37b) donde tampoco encontramos buenas correlaciones entre ambos estratos, siendo nuevamente Magallanes en la que se observa la correlación más alta ($r^2=0.49$, $p<0.05$). Esta dispersión de datos se debe principalmente a ciertas zonas geográficas que presentan abundancias de diatomeas muy elevadas en algunos periodos del año como es el caso de la zona del fiordo Reloncaví en la Región de los Lagos, la zona del fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf en la Región de Aysén Norte.

Mismos resultados encontramos al analizar la etapa XI (periodo 2017-18), donde no se aprecian buenas correlaciones entre ambos estratos para las tres regiones. Nuevamente las correlaciones más altas están dadas para la región de Magallanes en ambos grupos: diatomeas ($r^2=0.41$, $p<0.05$) y dinoflagelados ($r^2=0.54$, $p<0.05$). Cabe destacar que en la gran mayoría de las estaciones el estrato subsuperficial (10-20 mts) siempre presentó abundancias más bajas que el estrato superior (0-10 mts).

Análisis de abundancias y composición de especies para ambos estratos.

Los análisis relativos a la composición y contribución de las distintas especies al ensamble fitoplanctónico nos muestran un patrón común para cada una de las regiones, donde solo 5 especies representan más del 60% del porcentaje de la contribución al ensamble fitoplanctónico y en la mayoría de los casos ese 60% está dominado por un par de especies, tanto para diatomeas como para los dinoflagelados.

En cuanto a las diatomeas de la etapa XII, en la región de Los Lagos no se observan diferencias significativas con respecto a la abundancia de las distintas especies de diatomeas entre los dos estratos (ANOVA; df: 1, p: 0.20), esto se corrobora cuando observamos la contribución de especies al total de diatomeas (Fig. 5.3.38 a, b), donde las dos especies que predominan son *Skeletonema* spp. y *Pseudo-nitzschia* spp. sumando entre ambas más del 50% de la contribución al total de diatomeas. Esto también se ve reflejado en los altos índices de dominancia para ambos estratos (índice Simpson $D'=0.88$ estrato superficial y $D'=0.88$ estrato subsuperficial) e índices medios-bajos de diversidad (índice Shannon $H'=2.38$ estrato superficial, $H'=2.34$ estrato subsuperficial). Respecto de los dinoflagelados, tampoco se encontraron diferencias significativas para las abundancias de las especies entre ambos estratos (ANOVA; df: 1, p: 0.58), mientras que la contribución de especies al total de dinoflagelados estuvo representado principalmente por dinoflagelados atecados y tecados indeterminados (especies pequeñas aun no identificadas) donde estos dos grupos aportan sobre el 60% al total de dinoflagelados (Fig. 5.3.39 a,b) y al igual que las diatomeas se encontraron altos índices de dominancia (índice Simpson $D'=0.80$ estrato superficial y $D'=0.82$ estrato subsuperficial) y bajos índices de diversidad (índice Shannon $H'=1.87$ estrato superficial, $H'=1.93$ estrato subsuperficial). Para la etapa XI los resultados son bastante similares tanto para diatomeas como dinoflagelados, repitiéndose el patrón anterior, no encontrándose diferencias significativas entre ambos estratos en cuanto a la abundancia de diatomeas se refiere (ANOVA; df: 1, p: 0.24), mientras que la composición de especies estuvo marcada por una dominancia de la especie *Skeletonema* spp. (Fig. 5.3.38 c, d) en ambos estratos (índice Simpson



$D'=0.86$ estrato superficial y $D'=0.88$ estrato subsuperficial) e índices de diversidad medio-bajos (índice Shannon $H'=2.20$ estrato superficial, $H'=2.32$ estrato subsuperficial). Tampoco hubo diferencias significativas para la abundancia de dinoflagelados (ANOVA; df: 1, p: 0.46). La contribución al total de dinoflagelados estuvo marcada por la alta dominancia de las especies *Scrippsiella* spp. y *Oxytoxum* spp. en ambos estratos (Fig. 5.3.39 c, d).

Para la región de Aysén se vuelven a repetir los mismos patrones encontrados en la región de Los Lagos: para la etapa XII no se observan diferencias significativas entre ambos estratos en cuanto a la abundancia de las especies de diatomeas (ANOVA; df: 1, p: 0.74), en cuanto a la contribución de especies al total de diatomeas se observa una alta dominancia de *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* la cual en ambos estratos representa más del 40% del total, seguida de *Skeletonema* spp. con cerca del 20% de contribución (Fig. 5.3.40 a, b). Esta alta dominancia la podemos observar mediante el índice Simpson $D'=0.90$ para el estrato superficial y $D'=0.90$ para el estrato subsuperficial, mientras que presenta diversidad medio-baja para ambos estratos (índice Shannon $H'=2.53$ estrato superficial, $H'=2.57$ estrato subsuperficial). Por otro lado los dinoflagelados también muestran resultados similares con una alta dominancia principalmente de *Heterocapsa triquetra* en ambos estratos representando cerca del 50% del total de dinoflagelados del ensamble (Fig. 5.3.41 a, b). En cuanto a la abundancia de especies entre ambos estratos, no se encontraron diferencias significativas para los dinoflagelados (ANOVA; df: 1, p: 0.13). Con respecto a la etapa XI al igual que la etapa XII la dominancia en las diatomeas (índice Simpson $D'=0.85$ para el estrato superficial y $D'=0.88$ para el estrato subsuperficial), estuvo dominada por *Skeletonema* spp. y *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* contribuyendo entre ambas con más del 50% del total (Fig. 5.3.40 c, d). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la abundancia entre los dos estratos (ANOVA; df: 1, p: 0.99). Los dinoflagelados en esta etapa se caracterizaron por presentar una baja diversidad de especies (índice Shannon $H'=1.45$ estrato superficial, $H'=1.52$ estrato subsuperficial), con una amplia dominancia de *Alexandrium catenella* la cual contribuye con más del 60% del total de dinoflagelados en ambos estratos, seguidos en un menor porcentaje por *Heterocapsa triquetra* (Fig. 5.3.41 c, d).

Por último, en la región de Magallanes no se encontraron diferencias significativas en las abundancias de diatomeas para la etapa XII (ANOVA; df: 1, p: 0.84) y etapa XI (ANOVA; df: 1, p: 0.39). Si bien la composición de especies dominantes difiere entre ambas etapas, la dominancia está dada siempre solo por dos especies que dominan ampliamente sobre el resto. En la etapa XII el ensamble de diatomeas estuvo dominado por diatomeas pennadas indeterminadas (agrupa a pequeñas especies de diatomeas sin identificar) seguidas de *Leptocylindrus minimus* (Fig. 5.3.42 a, b) mientras que en la etapa XI las especies dominantes (al igual que las otras dos regiones) vuelven a ser *Skeletonema* spp. y *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* (Fig. 5.3.42 c, d). En ambas etapas se vuelven a observar altos índices de dominancia y baja diversidad. En el caso de los dinoflagelados la dominancia estuvo marcada principalmente por una sola especie en ambas etapas (*Heterocapsa triquetra*) que al igual que la región de Aysén presenta altos índices de dominancia diatomeas (índice Simpson $D'=0.82$ para el estrato superficial y $D'=0.83$ para el estrato subsuperficial), contribuyendo con más del 50% del total de dinoflagelados de la región (Fig. 5.3.43 a, b, c, d), sin embargo para la etapa XII si se encontraron diferencias significativas en la abundancia de dinoflagelados entre ambos estratos (ANOVA; df: 1, p:



0.05), mientras que en la etapa XI no se encontraron diferencias significativas entre ambos estratos (ANOVA; df: 1, p: 0.26).

Actividad 5. Variabilidad espacio-temporal de la temperatura y salinidad.

Para mayor claridad se entrega un análisis descriptivo de la temperatura y salinidad para cada región administrativa, las cuales, además, fueron divididas en áreas norte, centro y sur, a excepción de Aysén, la cual ha sido dividida en área norte, sur y Tortel, esta última la localidad más austral de dicha región.

Temperatura

De las 146 estaciones utilizadas para el análisis de serie de tiempo de temperatura, que comienza en octubre 2007 (etapa II) y finaliza en febrero 2019 (etapa XII) (Fig. 5.3.44), se puede señalar, en términos generales, que existe una diferenciación clara de temperatura media de toda la serie entre las tres regiones, registrándose el valor más alto en Los Lagos (media y desviación estándar: 11.8 ± 0.9 °C) y el valor más bajo en Magallanes (8 ± 0.8 °C). El valor medio y su desviación de la serie de Aysén, que fue de 10.7 ± 0.6 °C. Además, siguiendo en esta línea, se puede mencionar que dentro de cada región los valores medios más altos se presentaron en las áreas más septentrionales, y los más bajos, en las áreas más meridionales, siendo para Aysén el área de Tortel. Estos valores medios de la serie para las áreas norte, centro y sur de Los Lagos corresponden a 12.6 ± 0.8 °C, 11.6 ± 0.5 °C y 11.2 ± 0.7 °C, para las áreas norte, sur y Tortel de Aysén a 11.1 ± 0.7 °C, 10.8 ± 0.6 °C y 10.4 ± 0.5 °C, mientras que, para el norte, centro y sur de Magallanes a 8.6 ± 1.1 °C, 7.8 ± 0.8 °C, y 7.5 ± 0.6 °C, respectivamente.

También es importante mencionar que en las tres regiones los valores medios mensuales de toda la serie (octubre 2007 a febrero 2019) siguen un patrón estacional, donde la temperatura, después de invierno, comienza a aumentar notoriamente en octubre de cada año, alcanzando valores máximos anuales entre enero y febrero, y luego empieza a disminuir marcadamente en abril, alcanzando las temperaturas más bajas entre julio y agosto (Fig. 5.3.44). Este patrón anual se observa claramente en la siguiente tabla construida con valores medios anuales de temperatura (°C) y sus desviaciones para cada mes del año durante toda la serie para cada región administrativa:

Los Lagos

Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
13.5	13.5	13.0	11.9	11.6	10.6	10.3	10.4	10.5	11.2	12.0	12.6
1.2	1.1	0.9	0.5	0.5	0.4	0.3	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0

Aysén

Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
12.5	12.8	12.3	11.3	10.1	9.7	9.3	9.1	9.2	9.8	10.7	11.8
0.8	0.9	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.6	0.8

Magallanes

Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
9.3	9.4	9.0	8.6	7.7	7.1	7.1	6.6	6.6	7.3	7.9	8.7
0.9	0.9	0.8	0.7	0.8	0.9	0.8	1.1	0.8	0.8	0.8	0.9



En la figura 5.3.44 se observa que en las áreas de cada región, desde inicio de 2008 hasta aproximadamente diciembre 2010 existe una menor variación entre los valores medios mensuales máximos y mínimos de temperatura, generando oscilaciones más suaves entre meses invernales y estivales. Contrariamente, desde 2011 hasta febrero 2019, las variaciones de temperatura entre estos períodos del año (invierno y verano) son mayores, generando oscilaciones más marcadas. Estas diferencias son más evidentes en la región de Los Lagos (sobre todo en las áreas centro y sur) y menos evidentes en la región de Magallanes. En la región de Aysén las variaciones tienden a ser menos marcadas que las ocurridas en Los Lagos, acercándose más a las de Magallanes.

Por otro lado, podemos observar en la figura 5.3.44 que durante el período considerado más suave, es decir, de enero 2008 a diciembre 2010, en las áreas norte, centro y sur de Los Lagos, los valores medios mensuales presentan desviaciones más bajas (medias de 0.7, 0.4 y 0.4, respectivamente), indicando valores de temperatura más homogéneos durante ese período, contrario a lo que muestran los valores medios del período con oscilaciones más marcadas (enero 2011 a febrero 2019), donde las desviaciones medias mensuales son más altas (medias de 0.8, 0.6 y 0.8), indicando valores de temperatura más heterogéneos.

Además de las diferencias en las desviaciones medias mensuales ocurridas entre los períodos suave (2008-2010) y más marcados (2011-2019), se puede observar en la figura 5.3.44 que durante los meses más cálidos y fríos del año también existe una clara diferencia. En los meses con temperaturas mayores, es decir, entre diciembre y marzo (verano), las desviaciones tienden a ser mayores (ver como ejemplo Los Lagos centro), mientras que en los meses con temperaturas más bajas (invierno), las desviaciones son menores. Esto se evidencia, además, en las tablas presentadas anteriormente de las tres regiones.

Respecto a los meses en que se han registrado las temperaturas medias mensuales máximas de toda la serie de tiempo, se puede decir que, en las áreas norte, centro y sur de Los Lagos (Fig. 5.3.44) han ocurrido en los meses de febrero 2013 (17.6 ± 2.3 °C), febrero 2019 (14.5 ± 1.1 °C) y enero 2016 (13.7 ± 2 °C) mientras que las más bajas durante los meses de junio 2018 (9.8 ± 1 °C), junio 2018 (9.4 ± 0.7 °C) y julio 2018 (9.1 ± 1 °C), respectivamente.

En las áreas norte, sur y Tortel de la región de Aysén (Fig. 5.3.44), los valores medios mensuales más altos de toda la serie de tiempo fueron registradas en febrero 2013 (14.3 ± 2.1 °C), febrero 2014 (13.8 ± 1.9 °C), y enero 2013 (14 ± 1.3 °C), mientras que los valores más bajos se registraron en los meses de julio 2012 (8.7 ± 0.7 °C), julio 2012 (8.0 ± 1.3 °C), y septiembre 2010 (6.7 ± 0.3 °C), respectivamente.

En las áreas norte, centro y sur de Magallanes (Fig. 5.3.44) las temperaturas medias mensuales más altas registradas en toda la serie de tiempo fueron encontradas en los meses de febrero 2016 (12.1 ± 1.8 °C), marzo 2018 (10.3 ± 0.8 °C), y febrero 2019 (12.0 ± 0.7 °C), respectivamente. Contrariamente, los valores medios mensuales más bajos se registraron en junio 2013 (3.8 ± 1.2 °C), marzo 2016 (5.0 ± 0.1 °C) y septiembre 2015 (4.6 ± 0.6 °C).

Es relevante destacar que en el área sur de Magallanes (Canal Beagle) desde fines de 2016 las temperaturas máximas han aumentado proporcionalmente (Fig. 5.3.44), registrándose máximos históricos entre enero y marzo en 2017 (10.4 ± 1.2 °C), 2018 (11 ± 1.6 °C) y 2019 (12 ± 0.7 °C).



Salinidad

De acuerdo a los valores medios mensuales de salinidad de la serie de datos comprendida entre octubre 2007 y febrero 2019) se puede observar en figura 5.3.45 que el comportamiento de la salinidad no presenta patrones anuales definidos en las distintas 1reas de las regiones monitoreadas. Sin embargo, la informaci3n de algunos a1os puede ayudar a la interpretaci3n de esta variable. Los per3odos 2009-2011 del 1rea norte de Los Lagos o 2015-2019 de Tortel en Ays3n, o el 1rea norte de Magallanes muestran que algunos a1os tienen patrones estacionales definidos. En las 1reas de Los Lagos los valores medios mensuales m1s bajos de salinidad se presentan en primavera, entre los meses de septiembre a diciembre. Caso contrario ocurre en 3poca de oto1o e invierno, donde se registran los valores de salinidad m1s altos, particularmente entre los meses de junio a agosto (ver Fig. 5.3.45, per3odo 2009-2011 de Los Lagos norte). En el 1rea de Tortel en Ays3n, entre los a1os 2015-2019 se puede observar que, a diferencia de lo que ocurre en Los Lagos norte, los valores medios m1s bajos son registrados en verano, entre los meses de enero y marzo, y las salinidades m1s altas se encuentran en primavera, en meses de septiembre y octubre (ver figura 5.3.45, per3odo 2015-2019 de Tortel). Este patr3n tambi3n se repite para la serie de datos de Magallanes norte, aunque el rango de unidades entre valores m1ximos y m3nimos es menos pronunciado, variando alrededor de 5 unidades de salinidad (Fig. 5.3.45, Magallanes norte), mientras que para Tortel la diferencia entre m1ximos y m3nimos alcanza las 12 unidades de salinidad.

Si se considera un valor medio de salinidad de toda la serie de datos para cada una de las regiones administrativas, podemos indicar que Los Lagos es la regi3n que presenta el valor de salinidad m1s alto (media y desviaci3n de las tres 1reas: 31.3 ± 2.2 psu), Ays3n registra el valor medio m1s bajo ($26,9 \pm 2.7$ psu) y Magallanes presenta el valor intermedio (28.6 ± 1.9 psu).

Al analizar por separado cada regi3n, podemos observar que la salinidad presenta claras diferencias en, a lo menos, una de las tres 1reas que componen cada regi3n. En la regi3n de Los Lagos las 1reas centro y sur se diferencian claramente del 1rea norte (Fig. 5.3.45). El 1rea Los Lagos norte present3 el valor medio m1s bajo (28.1 ± 5 psu) de toda la serie de datos de la regi3n, mientras que las 1reas centro y sur presentaron valores medios de salinidad m1s altos (32.6 ± 0.8 psu y 33.6 ± 0.7 psu, respectivamente). Tal situaci3n tambi3n se repiti3 en Ays3n, donde las salinidades medias de toda la serie de las 1reas norte y sur tuvieron un comportamiento distinto al registrado en el 1rea de Tortel. Los valores medios de Ays3n norte y Ays3n sur fueron m1s altos (28.8 ± 3 psu y 27.9 ± 1.7 psu, respectivamente) que el registrado para Tortel (24.2 ± 3.5 psu). En la regi3n de Magallanes el 1rea geogr1fica que present3 diferencias respecto a las otras dos 1reas, correspondi3 al 1rea norte, la cual tuvo los valores medios m1s bajos de toda la serie de datos (25.5 ± 3.1 psu), en comparaci3n a los de las 1reas centro y sur (29.8 ± 1.7 psu y 30.6 ± 0.9 psu, respectivamente) que fueron m1s altos.

En las 1reas norte, centro y sur de Los Lagos (Fig. 5.3.45) los valores medios mensuales m1s altos de la serie de tiempo de salinidad fueron registrados durante los meses de agosto 2012 (33.1 ± 1 psu), junio 2018 (34.3 ± 0.8 psu) y los meses de abril 2012 y 2018 (34.6 ± 0.2 psu y 34.6 ± 0.8 psu respectivamente), mientras que los valores m1s bajos se registraron durante los meses de septiembre 2009 (20.1 ± 12), marzo 2013 (30.6 ± 6.1) y agosto 2014 (32.1 ± 1.3), respectivamente.



En las áreas norte, sur y Tortel de la región de Aysén (Fig. 5.3.45) los valores medios mensuales más altos de toda la serie se presentaron en los meses mayo 2016 (32.5 ± 0.5 psu), mayo 2016 (31 ± 0.5 psu) y septiembre 2014 (30 ± 1.3 psu) y los más bajos en los meses de febrero 2014 (13.3 ± 1.7 psu), febrero 2014 (12.5 ± 1.12 psu) y febrero 2018 (14.5 ± 3.9 psu), respectivamente.

Para la región de Magallanes, las áreas norte, centro y sur presentaron los valores medios mensuales más altos de la serie de tiempo en los meses de agosto 2008 (31.1 ± 2.9 psu), agosto 2008 (32.7 ± 2.4 psu) y junio 2013 (32.4 ± 1.3 psu), y contrariamente, los valores más bajos se registraron durante febrero 2018 (20.5 ± 3.2 psu), enero 2018 (28.7 ± 1.3 psu) y enero 2019 (22.4 ± 6.4 psu), respectivamente.

Actividad 6. Variabilidad interanual (10 años) de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum* en un fiordo del sur de Chile basado en un análisis de nicho realizado.

Condiciones físicas y meteorológicas

La serie temporal de 10 años (mayo 2006 a febrero 2017) se obtuvo como parte de un programa de monitoreo de algas nocivas llevado a cabo por el Instituto de Fomento Pesquero en nueve estaciones de muestreo (Fig. 4.3.1): tres en el Seno de Reloncaví cerca de la boca del fiordo (estaciones 1 a 3), cuatro en el medio (estaciones 4 a 7) y dos en la cabeza (estaciones 8 a 9) del fiordo. El fiordo de Reloncaví se caracterizó por una fuerte heterogeneidad ambiental espacio-temporal con respecto a la temperatura y la salinidad. El promedio de temperatura máxima y mínima subsuperficial (profundidad ~ 1 m) fue de $19 \pm 2.2^\circ\text{C}$ y $8.2 \pm 2.3^\circ\text{C}$, respectivamente, con valores similares observados entre las diferentes estaciones de muestreo en cada estación del año (Fig. 5.3.46A). Las temperaturas máximas del agua subsuperficial se observaron en enero de 2008 (22°C) y enero de 2017 (22.6°C), mientras que el valor absoluto más bajo se observó en mayo de 2006 ($6.2 \pm 2.2^\circ\text{C}$). La salinidad subsuperficial mostró oscilaciones extremas (0,77–32,54 psu) en todas las estaciones de muestreo durante todo el periodo de estudio (Fig. 5.3.46b). Aunque no se observó un patrón estacional consistente con respecto a los valores de salinidad, se observó un gradiente espacial claro para esta variable con valores más bajos (<15 psu) observados principalmente en la parte interior del fiordo (estaciones de muestreo 4 a 9).

La salinidad fue fuertemente estratificada en la capa superficial superior durante la mayor parte del periodo estudiado. Esta estructura vertical se debió a diferencias significativas en la salinidad entre aguas más dulces cercanas a la superficie (<15 PSU) y aguas marinas subsuperficiales más saladas (>30 PSU). Raramente se observó una estratificación menos pronunciada y solo durante los meses de invierno, cuando se observaron ocasionalmente salinidades más altas en la capa superior. La frecuencia de flotabilidad Brunt – VäisäläB (VNBV), un proxy de la estratificación de la columna de agua (Reguera et al., 2012), osciló entre 0.001 s^{-1} (columna de agua homogénea) a 0.15 s^{-1} (Estratificación con una aguda estratificación), aunque estratificación con una picnoclina gradual fue observada con mayor frecuencia.

Distribución espacio-temporal de *Dinophysis* spp. y *Protoceratium reticulatum*

Se identificaron cinco especies de *Dinophysis* en el fiordo de Reloncaví durante la serie temporal de 10 años. *D. acuminata* fue la especie más frecuente (presente en el 26% de las muestras), seguida de *D.*



punctata (2% de las muestras), mientras que *D. acuta*, *D. caudata* y *D. tripos* se observaron con menos frecuencia (<1% de las muestras). Tambi3n se observaron otras especies no identificadas y cuantificadas conjuntamente como *Dinophysis* spp. (presente en solo el 5% de las muestras). Durante el per3odo de estudio, *D. acuminata* fue la 3nica especie de *Dinophysis* con densidades celulares superiores al nivel de floraci3n considerado para especies de este g3nero (es decir, densidades celulares > 1000 c3lulas L⁻¹ (Reguera et al., 2012). Aunque se observ3 *D. acuminata* en todas las estaciones de muestreo, las altas densidades celulares de esta especie (> 1000 c3lulas L⁻¹) generalmente estaban presentes en la parte interior del fiordo durante primavera-verano (octubre a marzo). Las floraciones de *D. acuminata* se observaron en los a3os 2008 (11.300 c3lulas L⁻¹), 2011 (2.800 c3lulas L⁻¹) y 2014 (4.200 c3lulas L⁻¹), principalmente durante los meses de verano (Fig. 5.3.46F). Se percibi3 una excepci3n en la primavera de 2008 cuando se observ3 una floraci3n de esta especie en la cabeza del fiordo (2.500 c3lulas L⁻¹). Tambi3n se observaron ocasionalmente altas densidades celulares (>1000 c3lulas L⁻¹) para esta especie durante los meses de oto3o e invierno. Aunque ocasionalmente se observaron densidades moderadas de *P. reticulatum* (> 1000 c3lulas L⁻¹) a lo largo del estudio, las floraciones de esta especie se observaron en 2016 (175,700 c3lulas L⁻¹) y 2017 (62.600 c3lulas L⁻¹), siempre durante el verano (Fig. 5.3.46F).

An3lisis de Nicho

El 3ndice de media perif3rica (OMI) se utiliz3 para determinar la combinaci3n de variables ambientales que maximizaban la marginalidad promedio de las especies (es decir, la distancia euclidiana entre la condici3n de h3bitat promedio utilizada por la especie y la condici3n de h3bitat promedio del espacio de muestreo (D3delec et al., 2000). Un an3lisis preliminar utilizando todas las muestras (n = 839) indic3 un fuerte gradiente espacial debido a las diferencias en la salinidad subsuperficial observadas entre las estaciones ubicadas en el exterior y la parte interior del fiordo (Fig. 5.3.46B). Para eliminar el efecto debido a la variabilidad espacial, solo se incluyeron datos para las estaciones de muestreo 4 a 9 en un an3lisis posterior (n = 564). El an3lisis de OMI considerando solo las muestras de la parte interna del fiordo describi3 gradientes ambientales relacionados con escalas temporales estacionales e interanuales (Fig. 5.3.47A). Juntos, los dos primeros ejes OMI explicaron el 95% de la variabilidad total. El eje 1 de OMI explica la variabilidad estacional con el per3odo primavera-verano relacionado positivamente con la temperatura del agua subsuperficial y negativamente relacionada con la precipitaci3n y el flujo del r3o Puelo, mientras que el eje 2 de OMI explica la variabilidad interanual relacionada principalmente con el SAM y los 3ndices de Ni3o 3.4 y la salinidad subsuperficial. La prueba *envfit* (Oksanen et al., 2007) se3al3 la temperatura, el caudal y el 3ndice SAM como las variables que explican la mayor parte de la variabilidad total (R² = 0.88, 0.55 y 0.33, respectivamente; p < 0.01).

El OMI (es decir, la marginalidad de la especie) depende de la desviaci3n de una especie te3ricamente ubicua y uniformemente distribuida que se detecta en todas las condiciones de h3bitat disponibles (es decir, observada en todas las muestras) (OMI = 0) y est3 inversamente relacionado con el 3ndice de tolerancia (una estimaci3n del nicho de aliento) (D3delec et al., 2000). Las especies con bajo OMI ocurren en h3bitats t3picos (o comunes) de la regi3n de muestreo. Por lo general, muestran una alta tolerancia y est3n asociados con una amplia gama de condiciones ambientales (es decir, generalistas). Por el contrario, las especies con alto OMI se encuentran en h3bitats at3picos y se espera que tengan



una baja tolerancia asociada con una distribución en un rango limitado de condiciones ambientales (es decir, especialistas). De las seis especies incluidas en el análisis, *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. tripos* y *P. reticulatum* mostraron OMI significativos ($p < 0.05$). La especie más uniformemente distribuida fue *D. acuminata* (OMI = 0.6) (hábitat típico utilizado), mientras que *D. caudata* fue la especie más especializada seguida por *D. tripos* y *P. reticulatum* (OMI = 18.80, 5.84 y 5.75, respectivamente) (utilizando hábitat más atípico).

En el espacio multivariado OMI, el polígono formado por todas las muestras correspondió al "espacio ambiental realizado", mientras que el polígono formado solo por las muestras donde está presente una especie determinada corresponde al "nicho realizado" de la especie (36). Tanto *D. acuminata* como *P. reticulatum* ocuparon grandes porciones del espacio ambiental realizado (Figs. 5.3.47A, B), y la última muestra un nicho realizado relativamente más estrecho (tolerancia = 3.26 y 1.07, respectivamente). *D. acuminata* y *P. reticulatum* mostraron una alta tolerancia residual en comparación con las otras especies (8.77 y 8.38, respectivamente) y para ambas especies este parámetro de nicho representó más del 50% de su variabilidad (lo que indica que la mayor variabilidad en el nicho de las dos especies no fue explicada por las variables ambientales incluidas en el análisis).

Las gráficas de estimación de densidad de Kernel (KDE) obtenidas por separado para cada variable (Figs. 5.3.47 C-H) revelaron algunos patrones con respecto a la presencia / ausencia de estas dos especies y las condiciones ambientales. En base a eso, *D. acuminata* se observó con mayor frecuencia en condiciones con salinidades inferiores a 15 PSU, mientras que *P. reticulatum* mostró preferencia por temperaturas entre 16 y 18 °C y salinidad entre 10 y 15 PSU. Ambas especies se relacionaron con el caudal del río Puelo inferior a 1000 m³ s⁻¹, valores negativos a ligeramente positivos del índice Niño 3.4, valores ligeramente positivos del índice SAM y valores NBV de ~ 0.025 s⁻¹ (lo que era indicativo de condiciones estratificadas con una pycnoclina gradual). Los árboles de inferencia condicional indicaron un flujo de corriente inferior a 500 m³ s⁻¹ asociado con valores negativos del índice Niño 3.4 (< -0.4) como las condiciones que conducen a la floración de *D. acuminata* (Fig. 5.3.47 I). Por otro lado, las floraciones de *P. reticulatum* ocurrieron a temperaturas superiores a 18 °C y valores del índice Niño 3.4 superiores a -0.7 (Fig. 5.3.47J).

Objetivo Específico 4:

Difundir periódicamente la información generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.

Sistema de distribución de la información

Redes sociales

Durante esta etapa, se ha continuado la difusión para todo público a través de redes sociales (Facebook, Twitter e Instagram) con el objetivo de mantener a la comunidad informada respecto de temas nacionales e internacionales acerca de las Floraciones de Algas Nocivas (FAN). Los resultados generados por el grupo de trabajo (monitoreo, conferencias, congresos, publicaciones, otros), son informados a través de estas plataformas.



Canal de YouTube

En esta etapa, se incorporó un canal de YouTube que es operado desde el Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN), con el fin de difundir los videos, conversatorios y conferencias que se realizan durante el año en diversas actividades nacionales e internacionales. Los videos realizados por el equipo del CREAN actualmente disponibles son:

- ¿Qué es el Plancton Marino?
Link: <https://youtu.be/wvJ5rhCNeeQ>
- Floraciones de Algas Nocivas
Link: <https://youtu.be/uBL2joda5m0>
- Toxinas Marinas
Link: <https://youtu.be/ymYdRFQMThw>

Aplicación para teléfonos móviles – i-FAN

La aplicación disponible desde el año previo, en febrero 2020, se realizó el lanzamiento de la nueva versión de la App para teléfonos móviles, i-FAN, la cual incorporó varias modificaciones. El subprograma de Fiscalización y Vigilancia (incluye subprograma de Raúl Marín Balmaceda (Monitoreo de Alta Frecuencia) se entrega de forma separada del subprograma Regular (Monitoreo de Baja Frecuencia). El subprograma de alta frecuencia considera 23 estaciones, distribuidas en el sureste y sur de la isla de Chiloé, golfo Corcovado, Melinka y Raúl Marín Balmaceda. Además, se incorporó el estado de la abundancia relativa de otros taxones nocivos tales como *Alexandrium ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum*, todos relacionados a distintos complejos tóxicos, y la información no sólo considera los antecedentes generados por el monitoreo realizados en los fiordos, sino que también se extiende hacia el trabajo que se realiza por la costa del océano Pacífico (otro estudio).

La aplicación es gratuita y se encuentra disponible para su descarga en teléfonos móviles con sistema operativo Android e i-OS. Cada vez que los datos de abundancia relativa son actualizados en cualquiera de los puntos del monitoreo, los usuarios son notificados a través de mensajes “push” de manera instantánea respecto de la zona actualizada y el rango de fechas de la información presentada. De esta manera, el usuario puede ver en “Estados de Alerta”, la abundancia relativa de cada uno de los taxones de interés a través de un semáforo condicionado por el nivel de AR observado.

En esta nueva versión, la barra Menú se despliega en la parte inferior de la pantalla. En ella, se encuentran 4 íconos principales, que se detallan a continuación:

- INICIO. Es la pantalla de inicio dónde se describe de manera general el objetivo de la aplicación móvil (Fig. 5.4.1).



- **SEMÁFOROS.** A través de una escala de colores (desde el blanco hasta el rojo), el usuario podrá diferenciar el nivel de la abundancia relativa de la microalga de interés (*A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*). De esta manera, y tal como se observa en la figura 5. 4. 2, será posible encontrar:
 - **Semáforo Blanco.** Indica una “Situación de Ausencia”. La microalga no está presente en el agua.
 - **Semáforo Verde.** Indica una “Situación Normal”. Los niveles de abundancia son bajos y no representan riesgos.
 - **Semáforo Amarillo.** Indica una “Situación Moderada”. Los niveles de abundancia son intermedios, no representan alto riesgo, pero hay que estar atentos a la evolución de la Floración.
 - **Semáforo Naranja.** Indica una “Alerta Temprana”. Los niveles de abundancia son altos y potencialmente presentarían riesgo si se mantienen en el tiempo.
 - **Semáforo Rojo.** Indica una “Situación de Riesgo”. Los niveles de abundancia son muy elevados y representan riesgo.
- **ALERTAS.** En esta sección, se encuentra una bandera (banner) que permite ingresar al Programa de Marea Roja Fiordos (**Fig. 5.4.3**). En él, podrán desplegar las áreas asociadas al subprograma de Fiscalización y Vigilancia (Alta Frecuencia) (incluye subprograma de Raúl Marín Balmaceda), y al subprograma Regular (Chiloé norte, centro y sur; Aysén norte, sur y Tortel; Magallanes norte, centro y sur).
 - Alta Frecuencia: 23 estaciones
 - Chiloé norte: 18 estaciones
 - Chiloé centro: 12 estaciones
 - Chiloé sur: 24 estaciones.
 - Aysén norte: 55 estaciones.
 - Aysén centro: 27 estaciones.
 - Tortel: 5 estaciones.
 - Magallanes norte: 39 estaciones.
 - Magallanes centro: 31 estaciones.
 - 3.10. Magallanes sur: 10 estaciones.
- **MÁS.** En esta sección del Menú (**Fig. 5.4.4**), se podrá encontrar:
 - **Monitoreo Fiordos.** Donde se explica en que consiste el Programa, principales objetivos, detalle de sus estaciones y un mapa general donde se pueden visualizar los puntos de muestreo.
 - **Noticias.** En esta sección, son publicadas las principales noticias relacionadas con el CREAN.



- Preguntas Frecuentes. 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 Nocivas?, ¿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 antídotos para los Venenos?
- Fotos de microalgas. 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 el mundo microscópico que vive en el agua.

Acciones de difusión, capacitación y educación

Conversatorios y actividades colaborativas

En conversatorios educativos, orientados a alumnos de enseñanza básica (8vo básico) y media (I° y II° medio) en tres colegios de la región de Los Lagos, se observó qué de manera general, el grado de información con respecto a los aspectos importantes sobre las FAN en nuestro país. De esta manera, se puede recalcar que los grupos presentaron un grado medio a bajo de conocimiento en:

- ¿Qué son las Floraciones de Algas Nocivas?
- Periodos del año con mayores riesgos que ocurra un brote de TPM.
- La importancia de un Programa de Monitoreo.

En caso contrario, los grupos no manejaban información sobre:

- Síntomas de intoxicación por Toxina Paralizante.
- Qué tipo de mariscos puede ser vectores de toxinas marinas.
- Sobre el complejo de toxinas paralizantes.
- Validez de mecanismos de control sobre Mareas Rojas a nivel nacional.

Fiesta de la Ciencia.

A nivel nacional el Programa Explora realiza diversas actividades científicas. En las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, integrantes del CREAM de cada región, participaron en actividades de Difusión para dar a conocer los tópicos más importantes de las FAN en Chile. En la región de Los Lagos, esta actividad se realizó en el Muelle de Puerto Montt durante los días 11 y 12 de octubre 2019, con más de 4000 asistentes de distintos lugares de la región. En esta oportunidad, se participó con un stand dinámico de microalgas nocivas, con el objetivo de educar a niños acerca de las diversas formas y tamaños de las microalgas, cómo se distribuyen en la columna de agua, y qué factores son importantes para el crecimiento y desarrollo de ellas. Además, se trabajó con un microscopio invertido, la muestra de fitoplancton fue proyectada en una pantalla, donde los asistentes podían dar cuenta sobre ¿qué puede haber en una gota de agua de mar? Finalmente, y con respaldos audiovisuales y fotográficos, se



conversó con los asistentes sobre las FAN en Chile, las principales especies nocivas presentes, principales síntomas de intoxicación, cuáles son los transvectores, y la distribución latitudinal de las FAN desde su primer reporte hasta la fecha (Fig. 5.4.5).

Explora VA.

Este campamento orientado a 150 profesores de enseñanza básica y media de colegios rurales de la región de Los Ríos y de Los Lagos, se realizó en la zona de Antillanca, región de Los Lagos durante el mes de enero 2020. Esta participación fue gracias a la invitación realizada por el Programa Explora-Los Lagos. En esta actividad, se conversó con los profesores sobre los principales taxones nocivos presentes en su región, tipos de toxinas, principales síntomas de intoxicación y prevención. Esta actividad fue respaldada con muestras de microalgas vistas a través de microscopio invertido, y material audiovisual (fotografías y videos) (Fig. 5.4.6).

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 (norte de Aysén). 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 pronosticar la dirección y dispersión del flujo de partículas desde puntos específicos (focos de dispersión) para un periodo determinado de días (máximo 10 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 subprogramas de Fiscalización y Vigilancia y Raúl Marín Balmaceda (Alta Frecuencia), los cuales tienen una periodicidad de muestreo de aproximadamente 10 días en 23 estaciones de los siguientes sectores: sureste y sur de isla de Chiloé, golfo de Corcovado, 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 áreas (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 incluyen 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.

Congresos, conferencias y otras actividades

Durante el período que se informa se asistió a las Jornadas de Ciencias del Mar (mayo 2019) realizadas en Iquique por la Universidad Arturo Prat, en las que se presentaron cinco trabajos orales. Asimismo, durante noviembre 2019 se asistió a la Conferencia Latinoamericana de Ciencias del Mar (COLACMAR) realizada en Mar del Plata, Argentina, oportunidad en la que se presentó un trabajo (Anexo 5).

Por otro lado, se participó en otras actividades en las que el programa de monitoreo fiordos tuvo una participación parcial, como es el caso de:

- asistencia a la reunión anual del PICES 2019 (Pacific Intergovernmental Commission for Exploration of the Seas) “Connecting Science and Communities in a Changing North Pacific” a la que asistió como invitado el Dr. Jorge Mardones (Anexo 6).
- realización de coloquio con expertos internacionales, durante la primera semana de octubre de 2019 en la ciudad de Puerto Varas, ligada a microalgas nocivas y mortandades masivas de peces y otros organismos marinos, que incluyó reuniones cerradas y una conferencia pública (Anexo 7).

Taller Final – Etapa 13

En el mes de junio 2020, entre las 09.00 y 12.00h se realizó vía telemática, el taller de cierre de la Etapa 13 de nuestro programa de Marea Roja. En este taller se presentaron 6 exposiciones divididas en 2 bloques de tres presentaciones cada uno. En ellos, se presentaron datos biológicos y oceanográficos que abarcaron entre mayo 2006 a febrero 2019 abarcando más de 200 estaciones del monitoreo, entre las regiones de Los Lagos a Magallanes. De esta forma, las exposiciones presentadas en el primer bloque, consideraron diversos aspectos tales como las configuraciones espacio temporales de las especies de microalgas del fitoplancton entre 2007 y 2019 (Dra. Gemita Pizarro N.), la cual fue seguida por una comparación de los ensambles de fitoplancton entre dos estratos de profundidad en el extremo norte de los fiordos patagónicos usando una serie de 5 años (Dr (c) Rodrigo Martínez G.) continuando para el mismo sector geográfico una presentación referida solamente a cinco taxones dinoflagelados nocivos, considerando una serie de tiempo iniciada en 2013 (Dr. Javier Paredes). En el segundo bloque, se abordó la distribución y abundancia de 5 taxones nocivos de *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium* en fiordos y canales entre 2007 y 2019 (Dr. Leonardo Guzmán M.), seguida con distribución y abundancia de quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimentos superficiales en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes (Dr. Pablo Salgado G.), finalizando con una presentación sobre una especie nociva del género *Karenia*, abordando diversos aspectos biológicos de



la especie, la que ha ocasionado diferentes problemas, desde fines de década de los años noventa, a las actividades productivas y afectado a los ecosistemas de la macrozona sur austral del país. El taller presentó una alta convocatoria, con 125 asistentes, entre los cuales destacaron investigadores a nivel nacional e internacional (Anexo 8).

5.5. Objetivo Específico 5

Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva *Karenia selliformis* y de la aplicación de la técnica molecular de “metabarcoding” para el monitoreo de microalgas nocivas.

Actividad 1. Microalga nociva del género *Karenia*

Filogenia

Tanto el análisis de máxima verosimilitud como el análisis filogenético bayesiano mostraron que las secuencias CREAN KS01, KS02 obtenidas en este estudio se agregaron en un clado monofilético que comprendía solo secuencias de *Karenia selliformis*, fuertemente respaldadas por valores de arranque y probabilidad de 97% y 0.99, respectivamente (Fig.5.5.1). Dentro de este clado, se lograron reconocer tres clados anidados con probabilidad de 0.98 a 1 y 90 a 100% de arranque. El primer clado separó la cepa chilena CH_1999 de las secuencias china (CN), tunecina (TN), Nueva Zelanda (NZ) y CREAN en este estudio. El siguiente clado anidado mostró que las secuencias de NZ divergían de las secuencias CN / TN y nuestras secuencias CREAN, respaldadas por 1 probabilidad y 100% de arranque. El clado anidado final comprendía una agregación de las secuencias CN / TN y nuestras secuencias CREAN. Las distancias genéticas entre las cepas de *K. selliformis* CREAN de este estudio y las secuencias de Chile (1999), Nueva Zelanda, China y Túnez se resumen en la Tabla 5.2.

Morfología

Las células de *K. selliformis* de origen chileno (cepa CREAN_KS02) midieron 25-30 μm de longitud, 20-25 μm de diámetro transapical y 18-22 μm de espesor. Las células eran de color amarillo verdoso claro con varios cloroplastos periféricos. El núcleo era oblongo y ocupaba la mayor parte del hiposoma en posición horizontal. El episoma era cónico a hemisférico. El cíngulo descendía y se desplazaba 1x veces el ancho cingular. El hiposoma era más grande que el episoma, en su mayoría redondeado y con una concavidad insignificante. Un surco apical recto (ag) se originó a partir de la extensión del surco (se), que era del tipo abierto sensu Haywood et al. (2004), y continuó por una corta distancia en el lado dorsal del episoma. Los poros en el lado lateral izquierdo del hiposoma estaban ausentes (Fig. 5.5.2).

Perfil de pigmentos de *K. selliformis*

El análisis de pigmento por HPLC de un cultivo autotrófico de *K. selliformis* (CREAN_KS02) cultivado con una luz de 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ demostró que la clorofila a es el pigmento principal con clorofila c2 y c3 como pigmentos accesorios de clorofila (Fig. 5.3). La diadinoxantina fue el carotenoide más abundante, seguido de 19"-hexanoil-oxifucoxantina, fucoxantina, diatoxantina, 19'-hexanoiloxi-4-



cetofucoxantina, 19' - butanoil - oxifucoxantina, zeaxantina y β caroteno. También se detectó el biomarcador carotenoide 19 " - hexanoiloxparacentrona 3 - acetato (diéster de giroxantina). La composición de pigmento de la cepa chilena KS_02 fue similar a la descrita para las cepas de *K. selliformis* de Nueva Zelanda, Túnez y Chile (muestreadas en 1999), excepto por la menor presencia de diadinoxantina en esta última (Tabla 5.3).

Análisis de ficotoxinas conocidas

No se detectó ninguna de las gimnodiminas reportadas actualmente (Tabla 5.1) en las dos cepas de *K. selliformis*. El límite de detección de GYM A fue 0.025 fg cél⁻¹ en la cepa KS_01 y 0.042 fg cél⁻¹ en la cepa KS_02. Además, el análisis de las brevetoxinas no dio lugar a ningún nivel detectable de las variantes seleccionadas (Tabla 5.1). Los límites de detección (LOD) se determinaron como 0,59 fg cél⁻¹ (PbTx-2), 0.61 fg cél⁻¹ (PbTx-3), 2.64 fg cél⁻¹ (PbTx-6) y 5.25 fg cél⁻¹ (PbTx-9) para la cepa KS01 y como 0.98 fg cél⁻¹ (PbTx-2), 1.01 fg cél⁻¹ (PbTx-3), 2.64 fg cél⁻¹ (PbTx-6) y 5.25 fg cél⁻¹ (PbTx- 9) para la cepa KS02. Sin embargo, aparecieron dos picos en la traza de iones de la transición de masa de Brevenal (m/z 657.4 > 639.4) a los 3.39 y 3.61 min. Esto provocó el registro de espectros de disociación inducida por colisión (CID) de estos compuestos, lo que evidentemente evidenció que ambos compuestos no eran idénticos a Brevenal. Estos resultados muestran que ambas cepas chilenas de *K. selliformis* no produjeron variantes conocidas de gimnodiminas y brevetoxinas.

Producción de anión superóxido (O₂⁻) y composición de ácidos grasos

Las células lisadas de *K. selliformis* KS_02 mostraron tasas más altas de producción de anión superóxido (0.86 ± 0.53 pmol O₂⁻ cél⁻¹ h⁻¹) en comparación con las células intactas (0.31 ± 0.46 pmol O₂⁻ cél⁻¹ h⁻¹) (Tabla 5.4). El perfil de ácido graso de la cepa KS_02 estuvo dominado por el ácido graso saturado (SFA) seguido por el ácido graso poliinsaturado (PUFA) y con solo bajos niveles de ácido graso monoinsaturado (MUFA). Los principales ácidos grasos en orden decreciente de abundancia fueron los ácidos tetradecanoico (14: 0), 18: 3 ω 6 + 18: 5 ω 3, palmítico (16: 0) y docosaheptaenoico (22: 6 ω 3) para ambas réplicas (Tabla 5.4).

Citotoxicidad

Todos los tratamientos fueron altamente tóxicos, reduciendo la viabilidad de las células branquiales hasta entre $28,3 \pm 0,47$ y $44,7 \pm 2,41\%$ de los controles (Fig. 5.5.5A). La baja salinidad aumentó significativamente la potencia citotóxica de los cultivos KS_02 (ANOVA, df = 2, p <0.001). El sobrenadante fue ligeramente más tóxico que los tratamientos con células lisadas, pero solo a 35 salinidad. La temperatura no afectó significativamente la potencia citotóxica de los cultivos, excepto para el tratamiento a 12 °C y 30 de salinidad (ANOVA, df = 2, p <0.05). El estándar de gimnodimina no redujo la viabilidad de las células branquiales en ninguna de las siete concentraciones probadas (Fig. 5.5.5B).

Efecto de la temperatura y la salinidad en el crecimiento celular de *K. selliformis*

La respuesta de *K. selliformis* CREAM_KS02 a los cambios de temperatura y salinidad fue significativamente diferente en términos de la biomasa celular máxima y la tasa de crecimiento máxima μ_{max} (ANOVA, p <0.05, Fig. 5.5.6). La densidad celular máxima más alta en la fase de crecimiento estacionaria entre todos los tratamientos factoriales se obtuvo con una combinación de salinidad /



temperatura de 30/15 ° C ($11,800 \pm 904$ céls mL⁻¹) y una densidad celular mínima a 20/9 ° C (98 ± 21 céls mL⁻¹). El $\mu_{\max}$ más alto de 1.46 día⁻¹ se alcanzó a una salinidad de 35/18 °C y el $\mu_{\max}$ más bajo de 0.48 día⁻¹ a una salinidad de 20/9 °C.

Actividad 2. Identificación en masas de microalgas mediante técnica molecular

Durante el periodo estudiado, se detectaron 915 Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs), de las cuales y posterior a los análisis bioinformáticos se identificaron 525 OTUs (57,3%) a nivel taxonómico de potencial especie, mientras que 390 OTUs (42,7%) no se llegó a este nivel ni a género.

Los resultados se basan en el 57,3% de las OTUs identificadas. El mayor número de OTUs, fue detectado en el supergrupo SAR, que incluye las divisiones *Stramenopiles*, *Alveolata* y *Rhizaria*, donde *Alveolata* es el más representado (número de OTUs) considerando todas las estaciones de muestreo (Fig. 5.5.7), seguido de *Stramenopiles* y *Rhizaria*.

En términos de abundancia (basados en la cantidad de secuencias obtenidas), el más representado fue *Alveolata*, el cual incluye dinoflagelados y en segundo lugar *Stramenopilos* que incluye a las diatomeas (Fig. 5.5.8). La división *Alveolata* presenta mayores abundancias en diciembre 2018 y enero 2019, mientras que *Stramenopilos* fueron más abundantes durante noviembre 2018 y febrero 2019 (Fig. 5.5.8). Particularmente se observa un nivel elevado en la abundancia de organismos de la división *Amoebozoa* en las estaciones de la región de Aysén (A02 y A11N1). Los resultados que se detallan a continuación se basan en los datos obtenidos de *Alveolata* debido a las floraciones que se han detectado recientemente en las costas del sur de Chile ocasionadas por especies pertenecientes a este grupo.

En la división *Alveolata* se identificaron 123 OTUs pertenecientes al phylum *Dinoflagellata*, la cual en términos de abundancia presenta niveles mayores al 70%, comparados con los phylum *Ampicomplexa* y *Ciliophora*, alcanzando niveles máximos durante enero de 2019 (Fig. 5.5.9). Dentro de este phylum los órdenes más abundantes fueron los *Dinophyceae* (61 OTUs), *Gonyaulacales* (5 OTUs), *Gymnodiniales* (51 OTUs), *Peridiniales* (5 OTUs) y *Prorocentrales* (1 OTU). En términos de densidades de OTUs (número de secuencias) el orden *Dinophyceae* fue el más abundante durante el periodo de estudio, sin embargo, durante enero de 2019 estas densidades bajaron a niveles mínimos debido al aumento en las densidades en el orden *Gonyaulacales*, particularmente en las estaciones de muestreo L20, L22 y L23, ubicadas en la región de Los Lagos (Fig. 5.5.10). Los órdenes *Gymnodiniales*, *Peridiniales* y *Prorocentrales* también registraron esta tendencia con marcadas disminuciones durante el mes de enero (Fig. 5.5.10).

Considerando las OTUs que presentaron abundancias mayores al 20% con respecto al número total de secuencias obtenidas por muestra, se identificaron las especies más abundantes, representadas por los géneros *Alexandrium*, *Dinophysis*, *Protoceratium*, *Gyrodinium*, *Heterocapsa* y *Polykrikos* (Fig. 5.5.11) donde se detectó la presencia de especies como *Alexandrium catenella*, *Dinophysis acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Gyrodinium fusiforme* y *Heterocapsa triquetra*.



6. DISCUSIÓN

6.1. Objetivo Específico 1

Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizante (TPM), diarreica (TDM) y amnésica (TAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio

Actividad 1. Vigilar las variaciones espacio temporales del TPM, TDM y TAM en transvectores selectos en una red de estaciones que cubra representativamente los sectores que comprenden los subprogramas de Monitoreo Regular, Monitoreo de Fiscalización y Vigilancia, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.

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

La discusión en torno a los complejos tóxicos que son vigilados y la frecuencia y abundancia de los taxones nocivos que son seguidos en este estudio, sólo se abordará de manera muy general, pues los datos disponibles muestran que un análisis usando períodos más prolongados (e.g. 10 años) entregan una apreciación muchísimo más comprensiva, no obstante que los datos de cada etapa permiten de manera general, calificar períodos como años más o menos intensos, según las abundancias de las microalgas y los niveles y variedad de toxinas detectadas.

Dentro de ese contexto, la información recogida durante la etapa desarrollada entre marzo 2019 y febrero 2020 refleja al igual que en la etapa previa, que en general los complejos tóxicos vigilados no mostraron niveles muy altos en la concentración de toxina paralizante, o una frecuencia alta de resultados positivos para toxinas lipofílicas y, la no detección de toxina amnésica. Respecto de esta última, tal como ha sido señalado en informes previos, la frecuencia de muestreo mensual, determina que las probabilidades de detectar brotes de ácido domoico en los mariscos monitoreados sean muy bajas, ello básicamente dada la dinámica de esta toxina en los mariscos, dado que, en un lapso breve, en unos pocos días ocurre el incremento, que puede llegar a ser de riesgo para consumo humano, y la eliminación desde los mariscos ocurre en una o dos semanas, por lo que la TAM es no detectable en los análisis según la frecuencia de muestreo aplicada. Hay razones logísticas que justifican la frecuencia de muestreo aplicada. Para la TPM, el único sector que mostró niveles más altos y de riesgo para la salud pública fue el área sur de Aysén, en que se llegó a estimaciones de $5.453 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$, y también, en el área norte de Magallanes, aunque con concentraciones sensiblemente más bajas hasta $204 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$, pues en el sur de Chiloé las detecciones fueron similares a Magallanes, con estimaciones hasta $200 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$. Estas estimaciones fueron concordantes con las estimaciones de la abundancia de la microalga fuente primaria de la TPM, *Alexandrium catenella*, dado



que fue más abundante y más frecuente en el área sur de Aysén y esta región en general, aunque esta microalga fue detectada desde Chiloé centro hasta Magallanes sur, dentro del área de distribución más probable en que esta microalga puede ser detectada en fiordos y canales. Estas estimaciones fueron comparables a la etapa previa 2018-2019, en ambos periodos ha mostrado una abundancia notablemente más baja que en los años previos, particularmente 2016 que fue un periodo con una floración muy intensa (Guzmán et al., 2016), y 2017-2018 si bien mostró una floración de magnitud en la región de Aysén que afectó también el sureste de Chiloé, ésta no fue tan marcada como aquella de 2016 (Guzmán et al., 2018). Lo cual se reflejó en las estimaciones de TPM en los mariscos, si bien el registro de mayor magnitud no fue observado en 2016-2017, sino que durante 2017-2018. Respecto de las toxinas lipofílicas, mientras se mantenga la evaluación de estas toxinas mediante el bioensayo ratón, persistirán una fracción importante de falsos positivos a la TDM, dado que está confirmada la presencia de pectenotoxinas y yesotoxinas en los fiordos y canales chilenos, Los datos muestran abundancias importantes para especies del género *Dinophysis*, particularmente *D. acuminata*, presente en toda el área de estudio, y especialmente en Aysén, taxón que en los fiordos de Los Lagos y Aysén ha mostrado un perfil carente de toxina diarreica (ácido okadaico y dinofisistoxinas), pero positivo a pectenotoxinas, una toxina lipofílica. Urge incorporar la espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida como técnica oficial para evaluar las toxinas lipofílicas presentes en los fiordos y canales de Chile. Ello por cuanto además de los taxones de *Dinophysis*, que pueden estar asociados a toxina diarreica, es un taxón frecuente y distribuido en toda el área de estudio, *Protoceratium reticulatum*, microalga fuente primaria de las yesotoxinas, Y por otro lado está *A. ostenfeldii*, taxón que ha mostrado la capacidad de producir hasta tres complejos tóxicos, toxina paralizante, espirólidos y gimnodiminas; para Aysén al menos se ha podido mostrar que gonyaulatoxinas del complejo paralizante pueden ser producidas por este taxón.

Actividad 3. Conocer la abundancia y distribución espacio temporal de especies que componen el fitoplancton en la red de estaciones de estudio.

En este documento se entrega un análisis de los ensambles de fitoplancton abarcando un lapso más extenso que aquel que representa la etapa que se informa, marzo 2019 a febrero 2020. Por ello, tal como se indica en resultados, en esta oportunidad no se realiza ningún análisis de los datos de fitoplancton logrados durante la etapa que se informa, puesto que es más comprensivo abordar una serie de tiempo de a lo menos 12 años de los ensambles de fitoplancton, tal como se realiza en esta oportunidad. Cabe tener presente que en este informe final la información se aborda considerando los datos disponibles con una frecuencia mensual, a diferencia de lo efectuado previamente en que se trabajó la información considerando promedios mensuales según los datos disponibles entre mayo 2006 y febrero de 2013. Este criterio hacía perder mucha variabilidad, no obstante que entregaba rasgos generales importantes acerca de los ensambles de fitoplancton en los fiordos y canales. Para detalles sobre los ensambles de fitoplancton ver resultados y discusión del objetivo 3.



Actividad 4. Recolectar información hidrográfica y meteorológica en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.

Las concentraciones de nutrientes informadas para el período marzo 2019 – febrero 2020 son bajas y los aportes de estos compuestos al sistema de fiordos del sur de Chile, son mayores en el área norte (Los Lagos) que en las áreas centro (Aysén) y sur (Magallanes). Las mayores concentraciones nitrato-nitrito, en general, se observaron en el estrato 10-20m en la mayoría de los canales y fiordos que comienzan en el borde continental o están muy cercanos a éste. Los resultados muestran una gradiente con la latitud, en que la concentración disminuye de norte a sur en ambos estratos. Las concentraciones más altas fueron detectadas durante el periodo de invierno. Los fosfatos mostraron un comportamiento similar, tanto entre estratos como con la latitud. En primavera la concentración de nitrato-nitrito y fosfato, disminuyen en la superficie y la estratificación se intensifica, aumentando la diferencia entre la capa superficial de 0-10m y la profunda de 10-20m. Esta diferencia estacional en la capa superficial, se manifiesta por el consumo de nutrientes por parte del fitoplancton durante la primavera y verano. La distribución de los silicatos en la columna de agua, es mayor en el estrato 0-10m, y su concentración es decreciente con la latitud de norte a sur, las mayores se observaron en el periodo otoño- invierno en la capa superficial con estimaciones en un rango entre 5 y 60 μM en la región de Los Lagos y una marcada disminución hacia el sur con concentraciones cercanas 15 μM en la región de Magallanes.

Como es esperable las temperaturas muestran una declinación con la latitud y los mayores registros durante la estación de verano, pero también se advierten temperaturas más bajas mínimas y máximas en el estrato de 10-20m, ya que para las otras estaciones del año ello no siempre así. Las estimaciones de salinidad reflejan el ambiente estuarino que caracteriza los fiordos y canales, la fuerte influencia de grandes ríos, aporte de aguas de escorrentía, una precipitación intensa y muy variable en el área de estudio, además de la fusión de los glaciares por una parte y por la otra, la insltruición de aguas desde el océano Pacífico. determinan salinidades mayores con la profundidad. Los datos muestran que aunque los registros máximos de fueron estimaciones >33 PSU, en general la salinidad muestra la condición estuarina del área de estudio. Ello fue evidente con registros mínimos entre 10,71 en invierno en el estrato 0-10 en la región de Los Lagos y en la misma región se observó la estimación mínima más alta, 30,93 PSU en el estrato de 10-20m.

Actividad 5. Recolectar quistes de dinoflagelados en sedimentos superficiales de sitios selectos de las 3 regiones.

De las ~2300 especies de dinoflagelados existentes se ha mencionado que del orden del 10% tiene la capacidad de reproducirse sexualmente y formar quistes de resistencia bentónicos ([Anderson, 1998](#)). Aunque parezca un porcentaje bajo, la importancia de estudiar estas células, radica, entre otras cosas, en que gran parte de las especies nocivas que forman floraciones, y que han generado problemas para la salud humana por la producción de toxinas, forman quistes de resistencia. Un ejemplo de esto ocurre con especies de *Alexandrium* (e.g. *A. minutum*, *A. catenella*), las cuales tienen como característica formar floraciones tóxicas en variadas zonas costeras del planeta y formar quistes de resistencia ([Anderson et al., 2012](#)).



Los quistes de resistencia juegan un rol central en el ciclo de vida, ecología y evoluci3n de las especies. Adem3s de permitir la alternancia entre los hábitats pelágico y bentónico (Anderson, 1998), ellos pueden ser la fuente del inóculo que da inicio a una floraci3n o ser el medio para dar término a una floraci3n, esto último ya que los quistes de resistencia son el producto de la fusi3n de gametos, lo cual hace que disminuya la densidad celular en la fase final de una floraci3n (Kremp 2013, Díaz et al., 2014). Adem3s, los quistes tienen características trascendentales, como poseer un período de latencia obligatorio —que puede ir de días a meses dependiendo de la especie, las cepas y su distribuci3n geográfica— y poseer una pared celular muy resistente que les permite permanecer viables en los sedimentos por largos períodos bajo condiciones extremas (McQuoid et al., 2002). Por lo tanto, dado que los sedimentos constituyen el último reservorio de una gran cantidad de procesos que ocurren en la columna de agua, y los quistes tienen la particularidad de sobrevivir largos períodos en el fondo marino, el estudio de quistes es de gran importancia ya que permite obtener informaci3n relevante de especies planctónicas que habitan la columna de agua. Los estudios pueden entregar el registro de especies que pueden ser inadvertidas en análisis cualitativos ya que son difíciles de identificar por su similitud morfológica (e.g. género *Scrippsiella*), o que son frágiles y se deterioran con algùn fijador, o pueden presentar un corto tiempo en su fase vegetativa lo cual las hace difícil de pesquisar. Más aun, la correcta identificaci3n y cuantificaci3n de quistes de especies nocivas es fundamental para detectar zonas que presentan bancos de quistes que pueden ser la fuente de inóculo de floraciones en el futuro.

Los resultados, en conjunto con aquellos de etapas anteriores, por ejemplo, han permitido identificar que Seno Canalad (A18N2) y Seno Medio (A18N3) —estaciones cercanas ubicadas en el área norte de Aysén— podrían ser consideradas como reservorios de quistes, donde la presencia de quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum* son frecuentes y, generalmente, más abundantes que el resto de estaciones que se han reportado en distintos estudios de quistes llevados a cabo en el sur de Chile (Alves de Souza et al., 2008; Seguel & Sfeir, 2010; Salgado, 2011; Seguel et al., 2011; Díaz et al., 2014). Los primeros registros de altas abundancias de quistes de estas especies fueron mencionados en la etapa IV (2009-2010; Guzmán et al., 2011) de monitoreo, donde se indica para Seno Medio, densidades tan altas como $14.627 \text{ quistes} \times \text{mL}^{-1}$ de sedimento húmedo para *A. catenella* y de $25.971 \text{ quistes} \times \text{mL}^{-1}$ de sedimento húmedo para *P. reticulatum*. Hasta ese momento los registros de quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum* en el sur de Chile no sobrepasaban los $221,3 \text{ quistes} \times \text{cm}^{-3}$ (Bahía Tic Toc) y $270 \text{ quistes} \times \text{cm}^{-3}$ (Canal Puyuhuapi), respectivamente (Seguel & Sfeir, 2010; Seguel et al., 2010). Los valores reportados en esa etapa IV han sido catalogados como uno de los más altos a nivel mundial para *A. catenella* (Mardones et al., 2016) y muy probablemente también lo sean para *P. reticulatum*. Las densidades de quistes de *A. catenella* obtenidas en sedimentos recolectados en julio (invierno) 2010 durante la etapa IV se vincularon con la densa floraci3n que produjo la especie en gran parte de la regi3n de Aysén en el verano 2009, donde se llegó a contabilizar en el agua sobre $4.000.000 \text{ cél} \times \text{L}^{-1}$ (Mardones et al., 2010). Adicionalmente, si consideramos los resultados de quistes de las etapas XI (2017-2018; Guzmán et al., 2018) y XII (2018-2019; Guzmán et al., 2019) en estas dos estaciones, podemos mencionar que las densidades de estas dos especies nuevamente fueron muy altas, siendo las mayores de ambos estudios. En la etapa XI, donde las muestras fueron recolectadas en diciembre 2017, se menciona que *A. catenella* presentó la más alta densidad en Seno Canalad, registrándose $408 \text{ quistes} \times \text{mL}^{-1}$ de sedimento húmedo, mientras que *P. reticulatum* lo hizo en la misma estaci3n con $9.037 \text{ quistes} \times \text{mL}^{-1}$.



Un año después, en la etapa XII, los resultados fueron muy similares en muestras recolectadas en enero 2019, obteniéndose para *A. catenella* registros de 459 y 560 quistes $\times \text{mL}^{-1}$ de sedimento húmedo en Seno Canalad y Seno Medio, respectivamente. *Protoceratium reticulatum* por su parte alcanzó la más alta abundancia en Seno Canalad con 2.849 quistes $\times \text{mL}^{-1}$ de sedimento húmedo. Todos estos registros, además de mostrarnos que el área que comprende Seno Canalad y Seno Medio es una zona de alta sedimentación de quistes, podrían sugerirnos que ambas estaciones podrían ser fuente de inóculos para el crecimiento vegetativo de ambas especies y estar ciclando entre hábitats planctónico y bentónico manteniendo de forma constante las poblaciones en el área. Por otro lado, estas altas abundancias estarían dando cuenta, por un lado, de la alta capacidad de formación de quistes que tienen las poblaciones móviles de ambas especies, lo cual indica un éxito en sus estrategias de vida, y por otro lado, de que la co-ocurrencia de ambas especies bajo las mismas condiciones sugiere una adaptación o aclimatación a sus regímenes ambientales (i.e. temperatura, salinidad, nutrientes, luz) (Levandowsky & Kaneta, 1987). Es importante señalar que esta relación de co-ocurrencia entre *A. catenella* y *P. reticulatum* ya ha sido reportada en otros sitios de Aysén (Díaz et al., 2014), y también en el sur de Chiloé (Bahía Quellón y alrededores), donde el registro de quistes de ambas especies en columnas sedimentarias mostró la presencia conjunta de ambas especies en el tiempo (Salgado 2011).

Por otro lado, al igual que lo reportado en etapas previas, se confirma aquí que, entre las especies nocivas registradas en el sur de Chile, los quistes de *P. reticulatum* son los que presentan la mayor cobertura geográfica y los más abundantes (Seguel et al., 2010, 2011), siendo registrados en esta etapa en 19 (86.3%) de las 22 estaciones muestreadas alcanzando una abundancia total de 1.148 quistes. Luego le siguió *A. catenella*, que fue registrada en 8 (36.3%) de las 22 estaciones con 409 quistes totales, y en tercer lugar *A. ostenfeldii*, que estuvo presente en un número reducido de sitios en las tres regiones. Sus abundancias en general también son muy bajas. Esto seguramente ha hecho que *A. ostenfeldii* sea la especie toxigénica menos estudiada en el sur de Chile, aunque la producción de toxinas paralizantes haya sido comprobada (Salgado et al., 2015) y los riesgos ante una floración pudieran ser considerables. De acuerdo a la distribución de sus quistes, en la región de Los Lagos han sido identificados en el sur de Chiloé (Estero Yaldad, San Antonio, Canal Coldita) con densidades bajas (máximo 40 quistes $\times \text{mL}^{-1}$ sh; Guzmán et al., 2013), en Magallanes (Seno Ballena y bahía Feliz) con densidades relativamente bajas (máximo 82 quistes $\times \text{mL}^{-1}$ sh; Guzmán et al., 2011), y en Aysén, en la actual etapa en Isla Canquenes con bajas abundancias (7 quistes $\times \text{mL}^{-1}$ de sedimento húmedo).

Finalmente, dentro del resto de dinoflagelados reportados aquí, pudiendo ser llamados como dinoflagelados inocuos, los de mayor cobertura geográfica, abundancia y diversidad de especie son aquellos del género *Protoperidinium*. En esta etapa se reportaron hasta 12 especies distintas y dos especies asociados al género por su morfología. Además de ser reportado como el género de dinoflagelado más numeroso (Gómez 2005), su alta diversidad en los sedimentos y su amplia cobertura geográfica no es más que la evidencia de su naturaleza cosmopolita dada su alta tolerancia a un amplio rango de salinidades y temperaturas (Marret & Zonneveld, 2003).



6.2. Objetivo Específico 2:

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

1. Modelación

El modelo biológico de *A. catenella*, es del tipo mecanicista acoplado. Este tipo de modelo ha sido ampliamente usado para el estudio de dinámicas de poblaciones de microalgas nocivas como e.g [Ralston et al., 2014](#).

En nuestro caso, con este tipo de modelo hemos podido simular floraciones de *A. catenella* explicadas principalmente por advección, de esta manera hemos reproducido de manera cualitativa el crecimiento y desarrollo de la floración dependientes de la temperatura y salinidad a través del tiempo, logrando que las mayores concentraciones se ubiquen en zonas donde la circulación es restringida además de reproducir la ubicación de las microalgas en la columna de agua, la que en el modelo se debe principalmente a radiación solar, temperatura y salinidad.

A pesar de los resultados, aún se debe avanzar en probar este modelo con mejores datos de condiciones de borde e iniciales, con la finalidad de tener mayor certeza acerca de las ecuaciones de crecimiento y mortalidad utilizadas o bien calibrarlas y quizás mejorarlas de ser necesario. El poder calibrar las ecuaciones es una fortaleza para este tipo de modelo, sin embargo, la utilización de condiciones de borde e iniciales representa una debilidad, sobre todo para esta microalga; la que no tiene una alta recurrencia y su participación en la comunidad fitoplanctonica es restringida. Es por lo anterior que este tipo de modelo se utiliza bajo la configuración hindcast y no para pronóstico, sin embargo, sus ecuaciones pueden ser utilizadas por modelos de dispersión de partículas que interactúan con el medio.

En cuanto al pronóstico de conectividad entre zonas con floraciones algales y zonas aledañas, el modelo de dispersión de partículas es más operativo y a partir de los resultados, este tiene un buen desempeño; sin embargo solo explica la distribución de *A. catenella* provenientes de determinadas fuentes por procesos de advección; es por ello que los resultados podrían mejorar a través de la incorporación de las ecuaciones obtenidas en el modelo biológico de *A. catenella*; de este modo el número de células o clúster de *A. catenella* serían debido al crecimiento o mortalidad por condiciones de temperatura, salinidad e irradiación.

Los modelos de dispersión de partículas que son capaces de interactuar con el medio son conocidos como modelos de basados en el individuo, con este tipo de modelos se puede especificar el comportamiento de las células, incluyendo migración vertical, crecimiento y mortalidad e interactuar con otras especies.

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

La distribución vertical de la temperatura mostró una estructura de dos capas, caracterizada a grandes rasgos por una capa ubicada en los primeros 20m con temperaturas sobre 12° C y otra capa bajo los 30m con temperaturas bajo los 10°C. La primera capa esta sujeta al calentamiento y enfriamiento



producidos por la fluctuación anual de la radiación solar, este efecto es mayor durante la temporada de primavera y verano y la segunda capa esta afectada por advección de aguas de origen oceánico de temperaturas más bajas.

En cuanto a la distribución vertical de la salinidad, esta también mostró una estructura de dos capas, la primera ubicada en los primeros 20m para Puyuhuapi y 10m para Jacaf con bajos valores de salinidad debido a la presencia de agua dulce provenientes de precipitaciones y descargas fluviales, donde es mayor en Puyuhuapi que en Jacaf, debido principalmente a la presencia del río Cisnes que descarga en promedio $200 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Schneider et al., 2014); la presencia de esta capa de agua dulce ha sido descrita anteriormente por algunos autores Schneider et al (2014) y Pérez-Santos (2017).

La diferencia entre ambas capas es generada principalmente por radiación solar y presencia de agua dulce, provocando diferentes estructuras verticales en la columna de agua, donde en primavera y verano se observó una columna de agua más estratificada que durante otoño e invierno, sin embargo, la estratificación de estas dos capas también es generada por otros forzantes como el efecto del viento sobre la columna de agua.

La segunda capa, ubicada bajo los 20m es afectada principalmente por advección de aguas oceánicas, donde se identificó la presencia de variación estacional de la isoterma de 10°C , que durante primavera y verano se ubicó subsuperficialmente a diferencia de otoño e invierno donde esta isoterma se profundizó hasta los 120m. Según lo descrito por Pérez-Santos (2017), la presencia de esta isoterma representa el límite entre la masa de agua subantártica modificada y subantártica, la que además tendría cierta correspondencia con la isóclina de 33; sin embargo, en este estudio no se observó aquel comportamiento. No obstante, lo anterior, se observaron diferencias entre el periodo de primavera-verano 2018-19 y el 2019-20, ya que por un lado en el primer periodo la isoterma de 10°C se ubicó más profundo en comparación con el periodo 2019-20 y la salinidad fue mayor en el primer periodo, lo que indicaría mayor estratificación en el primer periodo. El periodo con mayor estratificación provoca que las características de la masa de agua subantártica modificada sean más marcadas, donde destaca su alta concentración de nutrientes ($\sim 12\text{-}20 \mu\text{M NO}_3^-$ y $\sim 1,2 - 1,6 \mu\text{M PO}_4^{3-}$) lo que fue concordante con lo observado en la distribución de nitrato y fosfato.

La diferencia en la estratificación de la columna de agua podría explicar la diferencia en los periodos de primavera-verano 2018-19 y 2019-20, donde la concentración máxima de nitrato ($21 \mu\text{M}$) registrada en Jacaf estuvo asociada a la mayor concentración de *A. catenella* registrada para toda la serie de tiempo. Esta máxima concentración de *A. catenella* además estuvo acompañada de altas concentraciones de silicato.



3. Ajustes del modelo conceptual físico-biológico, incorporando las tasas de máximo crecimiento de *Alexandriumcatenella* a distintos rangos de temperatura, salinidad, nutrientes y luz, además de estimar las tasas de pérdidas o remoción celular desde la columna de agua.

La figura 6.2.1 muestra las tasas medidas y estimadas a lo largo de este estudio, a partir de las cuáles se pueden ajustar las estimaciones de la modelación físico-biológica de *A. catenella*.

A partir de estas estimaciones es necesario tener en cuenta que, durante la evaluación del modelo, es necesario considerar que las tasas de crecimiento (μ) registradas en estudios para *A. catenella* exhibieron un amplio rango de valores que van desde 0,1 a 0,73 (d^{-1}). Estos valores dependerán de las condiciones de cultivo, en función de la disponibilidad de temperatura, salinidad, luz y nutrientes, así como del origen de los clones seleccionados para realizar estos cultivos. Por lo que, resulta relevante conocer las condiciones ambientales en donde se desarrollará la modelación de forma de determinar que tasas realistas a utilizar en los ejercicios de modelación.

En cuanto al consumo de nutrientes, se ha descrito que la nutrición por parte del género *Alexandrium* es de forma oportunista y que tendría la posibilidad de crecer tanto en ambientes ricos en nutrientes (Spatharis et al., 2007) como en ambientes donde se ha llevado a cabo el abatimiento de nutrientes (eg. Collos et al 2009). Por lo que, es complicado generalizar acerca del nicho, en términos de nutrientes, de *Alexandrium* y de los mecanismos de dependencia de nutrientes que seleccionan a este género de forma individual y entre especies cuando ocurre una floración. Al igual que otros dinoflagelados, la limitación de nutrientes en ambientes estuarinos y marinos es principalmente por nitrógeno. En este sentido, experimentos realizados con distintas fuentes de nitrógeno han reportado que existen diferencias en las tasas de crecimiento de *A. catenella* si la fuente de nutrientes es nitrato, amonio o urea, con mayores tasas de crecimiento si el nutriente es nitrato y amonio (Matsuda et al., 1999).

En términos de luz, los valores medidos son cercanos a los utilizados por otros autores para bioensayos de crecimiento de *A. catenella*. Sin embargo, se ha reportado que esta especie no se fotoinhibiría con altas concentraciones de luz, sobre 800 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Carignan et al., 2002), pero muy sería muy sensible a la radiación UV.

Finalmente, es necesario continuar con el desarrollo de experimentos que permitan conocer la interacción de *A. catenella* con procesos físicos como lo es la mezcla de la columna de agua y la turbulencia, la cual puede afectar el crecimiento de esta especie (Sullivan et al., 2003). Además, de continuar con los estudios de las estrategias biológicas que interactúan con procesos, como la formación de quistes cuando decae la floración y el proceso de germinación cuando existen condiciones ambientales favorables. Para esto, se ha propuesto que en la nueva Etapa del proyecto contemple la estimación de la tasa de germinación de *A. catenella*, realizando experimentos que permitan estimar la tasa de germinación de bajo diferentes condiciones ambientales.



6.3. Objetivo Específico 3

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.

Actividad 1. Continuación análisis rutinario e incorporación de la representación gráfica.

Conglomerados de la densidad del fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados.

Los conglomerados resultantes del análisis MDS, muestran que los grupos fitoplancton y diatomeas considerando la macrozona sur-austral para el periodo octubre 2007- febrero 2019 (sin considerar el año 2011 por carecer de datos de densidad celular del fitoplancton), están conformados mayoritariamente por los mismos subgrupos de estaciones, salvo excepciones (e.g. A13, A14; M12, M35). La alta correlación entre la densidad celular promedio periodo octubre 2007- febrero 2019, entre ambos grupos ($R^2= 0.994$, $p<0.0001$) explica la similitud entre los conglomerados de estaciones resultante del análisis MDS de cada grupo (Fig. 5.3.1A). Las estaciones con la mayor densidad celular promedio del periodo octubre 2007- febrero 2019 ($>1.000.000$ cél L^{-1}) de fitoplancton, es coincidente con la mayor densidad promedio del periodo para las diatomeas y se producen en las estaciones del sector seno-golfo Reloncaví (A_r). Los resultados corroboran que el fitoplancton está muy bien representado por el grupo de diatomeas total.

En cambio, los conglomerados de dinoflagelados, difieren en la composición de estaciones en relación a las descritas para el fitoplancton y diatomeas. Los conglomerados de dinoflagelados, integran estaciones en grupos únicos que, en los grupos de fitoplancton y diatomeas, constituían subgrupos separados (e.g. subgrupo sector isla Piazzzi norte, C_{pn} , característico para los grupos totales de fitoplancton y diatomeas, pero que desaparece en el grupo total de dinoflagelados. En este caso, las estaciones del grupo “desaparecido”, pasa a formar parte de subgrupos aledaños (recuadro inferior celeste, Fig. 5.3.4G). Este resultado es concordante con la baja correlación ($R^2= 0.070$, $p<0.0012$) entre dinoflagelados y fitoplancton (Fig. 5.3.5B) en términos de densidad celular promedio periodo octubre 2007-febrero 2019. Que la mayor densidad celular promedio por periodo de los dinoflagelados (>20.000 cél L^{-1}) se observe en un rango específico de densidad celular promedio por periodo, de diatomeas o fitoplancton (entre 200.000 y 900.0000 cél L^{-1}), y en conglomerados de estaciones heterogéneos y distantes geográficamente (F_{gc} , A_r y A_{mn} , Fig. 5.3.5B), evidencia que la composición específica del ensamble del fitoplancton (o diatomeas), así como las condiciones ambientales particulares, son importantes en la proliferación de los dinoflagelados. Si los rangos de densidad celular de diatomeas son alcanzados durante el crecimiento del fitoplancton o durante la fase de decrecimiento, es algo a dilucidar, puesto que es posible hipotetizar que tiene incidencia en el tipo o especies de dinoflagelados que proliferen. No hay que olvidar que estamos hablando de dinoflagelados en total, no necesariamente de los productores de toxinas. Estos últimos, ocurren en bajas densidades celulares en relación a las de fitoplancton, diatomeas y/o dinoflagelados inocuos.

La densidad máxima promedio octubre 2007- febrero 2019, alcanzada por el fitoplancton y diatomeas fue: $2.587.762$ y $2.523.064$ cél L^{-1} , respectivamente, ambas ocurridos en una misma estación de



muestreo (L03N1, fiordo de Reloncaví), mientras los dinoflagelados alcanzaron una densidad máxima promedio octubre 2007- febrero 2019, de 51.497 cél L⁻¹ (estaci3n M06, frente al golfo Corcovado). La densidad máxima promedio por el periodo de años, alcanzada por el fitoplancton y diatomeas, fue superior en 1-2 magnitudes a la de los dinoflagelados.

Los resultados obtenidos, son consistentes con los reportes de la formaci3n de micro-hábitats y micro-nichos (e.g. [Karasiewicz et al., 2018](#); [Alves-de-Souza et al., 2019](#)), que favorecen la proliferaci3n de especies de dinoflagelados y desfavorecen la proliferaci3n de las especies de diatomeas, y viceversa. En cualquier caso, su ocurrencia, aunque puede ser variable, es consistente en el tiempo para la macrozona sur-austral, para el lapso de datos utilizado para realizar el análisis MDS.

Para proseguir el análisis exploratorio con la data histórica, será de interés definir el tipo de variables ambientales asociadas a la ocurrencia de estos grupos, así como el tipo de sucesi3n (simultánea, desfasada) entre los diferentes grupos, con énfasis en las especies que co-ocurren y/o se suceden. Por ejemplo, es de interés considerar en los próximos análisis, las especies de diatomeas asociadas, positiva o negativamente, en la distribuci3n de los grupos de dinoflagelados aquí definidos, al mismo tiempo que establecer las especies de dinoflagelados que componen estos grupos.

Distribuci3n espacio temporal de los taxones nocivos de dinoflagelados nocivos.

Este es el primer análisis descriptivo que se realiza, considerando simultáneamente, el comportamiento espacio temporal de la abundancia relativa de los cinco taxones nocivos de dinoflagelados considerados en este estudio. La serie considerada aborda desde octubre de 2007 hasta febrero de 2019, para un total de 146 sitios de muestreo, abarcando desde el estuario de Reloncaví en la regi3n de Los Lagos hasta los islotes Mariotti en el extremo sur de la regi3n de Magallanes.

Aunque existen diversas diferencias en las variaciones de las estimaciones de abundancia relativa para los taxones considerados, al menos hay tres hechos que merecen ser destacados, primero, los resultados est3n mostrando dos períodos para todos los taxones, uno con estimadores más bajos y otro con abundancias más altas, el primer periodo abarca desde 2007 hasta 2010 o 2012 o 2013 según el tax3n, año a partir del cual se aprecia un incremento en los estimadores, lo cual sería respuesta a una seál ambiental que abarcaría todo la geografía del sistema de fiordos y canales, y las diferencias en la variabilidad en la abundancia relativa entre sectores sería la consecuencia de respuestas particulares de cada tax3n a las condiciones ambientales locales de cada sector; segundo, durante los años 2016, 2017 y 2018, se observa en líneas generales un periodo con una mayor abundancia de los distintos taxones estudiados, si bien estos resultados no son advertidos en todos los taxones estudiados, ello es muy evidente en *A. catenella* y *D. acuminata*, resultado que es concordante con la fase terminal de El Niño 2015-2016 uno de los más intensos durante los últimos 50 años, sólo comparable con aquel registrado en 1997-1998, lo cual se expresa con distinta intensidad dependiendo del sector de los fiordos y canales, en el periodo de insolaci3n, cobertura nubosa, direcci3n e intensidad del viento, menor precipitaci3n, entre otros, respondiendo a la ubicaci3n del anticicl3n del Pacífico, sin embargo, aunque la abundancia de los taxones estaría reflejando por tele conexi3n el efecto de esta seál ambiental diversa, aún no se han identificado las variables locales que estarían determinando los resultados encontrados, existe allí un desafío de macro escala para abordar en condiciones de campo estudios



específicos y la necesidad de abordar con cada uno de estos taxones considerados, estudios de autoecología en condiciones de laboratorio, dado que todos tienen requerimientos ambientales distintos, siendo más notorias estas diferencias entre especies de *Alexandrium* que son organismos autotróficos y *Dinophysis* que son dinoflagelados mixotróficos; y tercero, aunque estos resultados no son evidentes en todos los taxones, se aprecia una tendencia de disminución de la abundancia con la latitud, ello es más evidente para *D. acuta* y *P. reticulatum*, lo cual no ha sido observado en todos los taxones, planteando la interrogante de cuál o cuáles serían las variables ambientales que explicarían dichas diferencias y también evaluar para los otros taxones como resuelven estos desafíos ambientales. La respuesta a estas interrogantes son claves para un programa de monitoreo. Si bien el programa en sí, no aborda este tipo de preguntas, y sólo genera información confiable en el espacio tiempo que permita disponer de alertas tempranas que hagan posible mitigar efectos y eventualmente controlar las floraciones, es evidente que es necesario abordar estas preguntas, como única forma de lograr una comprensión integrada de los procesos que regulan la distribución y abundancia de las microalgas en el sistema de fiordos y canales, y particularmente de las microalgas nocivas.

Actividad 2. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

Los datos de abundancias relativas disponibles para el sistema de fiordos y canales de cinco taxones de dinoflagelados nocivos asociados a distintos complejos tóxicos, *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, están dispuestas en una serie de tiempo que se extiende desde octubre de 2007 hasta febrero de 2019, para un conjunto de 146 sitios de muestreo distribuidos entre el estuario de Reloncaví en la región de Los Lagos hasta los islotes Mariotti en el extremo sur de la región de Magallanes. Los datos representan un poco más de once años de información mensual continua y con una amplia cobertura que abarca aproximadamente entre los 41° - 55° L.S. Desafortunadamente los datos disponibles entre mayo de 2006 y marzo de 2007, no pudieron ser usados, dado que existe un vacío de información de 6 meses entre la I y II etapas de este programa, dado que esta última se inició en octubre de 2007, y además se debieron excluir 82 sitios de muestreo, dado algunos ya no forman parte de la red de sitios de muestreo, y otros, porque han sido incorporados, con posterioridad, en distintos momentos.

No obstante, la calidad de la información analizada, en este caso estimadores de abundancia relativa, han permitido abordar una interrogante que sugiere que años favorables para floraciones de especies de estos géneros, estarían asociados a condiciones que determinan floraciones simultáneas o cuasi simultáneas de estos 5 taxones, pero ocupando distintos sectores geográficos, durante ciertos períodos del año y diferentes sectores en la columna de agua en aguas someras. Por tanto, sobre la base de los antecedentes indicados ha sido posible realizar un análisis, tanto de las relaciones entre los taxones considerados, como de sus respectivos comportamientos espacio temporales, que han permitido disponer de los primeros antecedentes que entregan respuestas a esta pregunta.

El análisis se ha abordado desde lo general, que está representada por la aproximación más generalista, dado que los datos fueron tratados como un solo conjunto considerando todos los sitios en conjunto, i.e. sumatoria de las abundancias relativas por mes para todos los sitios de muestreo para cada taxón,



o considerando todos los períodos de muestreo en conjunto, i.e. sumatoria de las abundancias relativas por localidad para todos los períodos de muestreo para cada taxón, de tal forma que los resultados representan una primera aproximación, cuyos detalles y otras aproximaciones más minuciosas, podrán ser abordadas secuencialmente, según la orientación que los propios resultados vayan sugiriendo.

La interrogante planteada, considera tres aspectos, el espacio (sitios de muestreo), el tiempo (períodos de muestro) y diferencias espacio temporales en la abundancia según la ubicación de las microalgas en la columna de agua. Se entregan respuestas a los dos primeros aspectos, dado que los datos analizados, fueron tomados con red de fitoplancton (arrastres desde 20 m de profundidad a superficie) y no permiten segregar por estratos.

Los resultados muestran que existen correlaciones positivas significativas entre la mayor parte de los taxones tanto a nivel geográfico (sitios de muestreo) como a nivel temporal (estaciones del año), siendo estas últimas más frecuentes al considerar las variaciones de la abundancia en las distintas estaciones del año durante los diferentes años considerados. Ello está indicando que las variaciones de las abundancias, siguen las mismas tendencias al menos para *Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuminata*, *Alexandrium catenella* y *D. acuta*, independientemente de las magnitudes que adopten las respectivas abundancias relativas de éstos ya sea en el espacio o en el tiempo, ya que *A. ostenfeldii*, con una sola excepción (*O. ostenfeldii* vs *D. acuminata* en el tiempo), no está mostrando la misma variabilidad espacio temporal, lo cual sugiere que las condiciones que favorecen el incremento en la abundancia de un determinado taxón, son también propicias para el aumento de la abundancia de los otros taxones, si bien ello se manifestaría de forma heterogénea en todo el espacio geográfico que abarca el estudio, y en las distintas estaciones del año, lo que estaría reflejado en la distribución y abundancia diferencial de los taxones. Desde el punto de vista geográfico, las diferencias están sugiriendo también que hay sectores en que la abundancia de todos los taxones es más alta, lo cual es mostrado por la conformación de conglomerados que caracterizan determinados sectores de cada región administrativa. Los resultados muestran para todos los taxones que las abundancias más altas por sitio de muestreo y por períodos de muestreo se registran en la región de Aysén, y particularmente en los sectores norte y sur de esta región. Luego el sector norte de la región de Magallanes, y durante períodos de intensas floraciones el sector de Chiloé sur, en la región de Los Lagos.

Por otro lado, desde el punto de vista temporal, además de las diferencias que son esperables como abundancias más altas en primavera y verano, no era un resultado esperado, que las abundancias pudieran ser segregadas de manera temporal, dado que se distingue un período con abundancias más bajas y otro en que éstas fueron significativamente mayores; los resultados muestran que entre 2007 y 2011 las abundancias eran más bajas, en todas las estaciones del año considerando todos los sitios de muestreo en conjunto, en comparación con aquellas estimadas para el lapso 2012-2018 también para todas las estaciones del año para todo el conjunto de sitios de muestreo, con un lapso de transición que estaría representado por el período otoño invierno de 2012. Por el momento, no es factible sugerir cuales serían las condiciones ambientales que habrían generado ese cambio tan marcado en las abundancias de los taxones estudiados, pero lo que es evidente es que el efecto de la fase final de El Niño 2015-2016 generó además un impulso adicional de incremento de la abundancia, muy probablemente por



teleconexión e influyendo, de manera diferencial, en todo el ecosistema de fiordos y canales chilenos. De hecho, durante la fase final de este evento El Niño hubo una floración de *A. catenella* que fue muy intensa en la región de Aysén, y que finalmente afectó parte importante del mar interior de Chiloé, e incluso se extendió al océano Pacífico abarcando hacia el norte hasta la región de Los Ríos (Guzmán et al., 2016). Un análisis de más detalle de los resultados, dado que *P. reticulatum* muestra correlaciones positivas con tres de los otros taxones considerados (*A. catenella*, *D. acuminata*, *D. acuta*), tanto en el espacio como en el tiempo, refleja que esta especie presenta respuestas más generalistas a las condiciones ambientales que los otros taxones. Un diseño factorial abordando varias cepas de cada uno de los cinco taxones en condiciones de laboratorio, permitiría al menos conocer las respuestas diferenciales de crecimiento a determinadas condiciones abióticas, no obstante, las dificultades para enfrentar un diseño de esta naturaleza con las especies de *Dinophysis*, dada su condición mixotrófica.

Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

La mayor abundancia y probabilidad de detectar la presencia de los dinoflagelados tecedores nocivos se observó de manera recurrente en el estrato de 0 a 10 m de profundidad en comparación con el de 10 a 20 m. La mayor abundancia en el primer estrato puede ser explicada por la mayor disponibilidad de luz que es necesaria para realizar fotosíntesis. La disponibilidad de luz puede variar, entre otros factores, por la estación del año, la materia inorgánica que puede provenir desde los ríos y la profundidad. Respecto a este último factor se ha observado en la Patagonia Chilena que a la superficie del agua puede llegar en promedio una intensidad de luz fotosintéticamente activa de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esta intensidad se atenúa en la columna de agua alcanzando 160 y $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a 9 y 15 metros de profundidad, y a 20 metros es casi nula (Huovinen et al., 2011). En la superficie altos valores de intensidad de luz pueden generar inhibición del crecimiento de ciertas especies como *A. catenella* (Paredes et al., 2020). Debido a esto podrían migrar a través de la columna para evitarla. No obstante, una baja intensidad de luz como la que se puede alcanzar a 20 m de profundidad también podría ser limitante para la fotosíntesis. En consecuencia, la disponibilidad de luz podría ser un factor que afectaría la distribución de las especies nocivas en la columna de agua. Sin embargo, hay que considerar que otros factores, como la picnoclina y disponibilidad de nutrientes también podrían influenciarla.

La probabilidad de detectar la presencia de especies nocivas varió a través de las zonas. La zona de Melinka tuvo una mayor probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas como *A. catenella* y *P. reticulatum*. En RMB se observó una mayor probabilidad de observar a especies como *A. ostenfeldii*, *D. acuta*, pero a diferencia de Melinka, tuvo una mayor y significativa pb de detectar la presencia de *D. acuminata* y una baja y significativa pb de la presencia de *A. catenella*. Por su parte, Chiloé Sur fue la zona que mostró la menor pb en donde se puede detectar la presencia de las especies nocivas, probabilidades que fueron particularmente bajas para *A. ostenfeldii* y *D. acuta*. La variación de la presencia de las especies en las zonas puede deberse a las diferentes condiciones ambientales que estas presentan. En forma general, Melinka es una zona con influencia oceánica y con una intrincada geografía que contiene canales e islas, y donde, por ejemplo, el registro de quistes y generación de floraciones de *A. catenella* ha sido histórico (Mardones et al., 2016). RMB es una zona con una mayor influencia de agua dulce debido a que se ubica en el Fiordo Piti Palena, y donde además, se encuentra



la desembocadura del Río Palena. Así, y como han evidenciado otros autores, en estos ambientes se generan condiciones óptimas para que especies del género *Dinophysis* puedan habitar ([Alves-de-Souza et. al., 2014, 2019](#); [Díaz et. al., 2011](#)). De esta forma, las diferentes características ambientales entre las zonas podrían ser factores relevantes que estarían afectando la pb de detectar la presencia de las especies nocivas.

El 2016 fue el año que generó la mayor probabilidad de detectar la presencia de *A. catenella*, *D. acuminata* y *P. reticulatum*. El 2016 se caracterizó por ser un año anómalo desde una perspectiva climática. A diferencia de otros años, el 2016 presentó un verano y otoño más seco, existió déficit de precipitación, disminución en la descarga de ríos hacia aguas marinas costeras, exceso de radiación solar en la superficie y frecuentes vientos que favorecen la generación de surgencias fuera de la costa ([Garreaud 2018](#)). Se ha reportado que estas condiciones climáticas pueden ser favorables para generar severas floraciones, como las que ocurrieron con *A. catenella* y *Pseudochattonella verruculosa* ese año ([Trainer et. al., 2020](#)). Adicionalmente, a lo largo del año las especies nocivas mostraron variación en el mes o rango de meses en que es posible detectar una mayor probabilidad de su presencia en la columna de agua. De esta forma, *A. catenella*, *D. acuminata* y *D. acuta* mostraron un rango de 5 meses, no obstante, el rango difirió en los meses que abarcaron. Por ejemplo, *A. catenella* mostró alta presencia entre diciembre-abril con un máxima pb en febrero; *D. acuminata* mostró una alta presencia entre noviembre-marzo con un valor máximo en diciembre; y *D. acuta* mostró una alta presencia entre enero-mayo con un máximo en febrero. Por otro lado, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum* mostraron alta pb de presencia enero. Aunque, a lo largo de los años, estas últimas dos especies han mostrado bajas abundancias y bajos niveles de AR en comparación con los otros taxones nocivos.

El análisis de la AR reveló que existen algunas estaciones en las que continuamente se observa altos niveles para determinadas especies. De esta forma, la presencia de *A. catenella* y *P. reticulatum* fue la más alta en las estaciones A05 y A34 pertenecientes a la zona de Melinka. Para *A. ostenfeldii*, se observó que las estaciones A06 y A08 mostraron una mayor pb de alcanzar altos niveles de AR, estaciones que están ubicadas en RMB. Similarmente, *D. acuminata* y *D. acuta* mostraron que en las estaciones de RMB, y particularmente en la A06, existe un mayor pb de alcanzar altos niveles de AR. Considerando que estas estaciones son consistentes en mostrar altas AR para diferentes especies, podrían ser utilizadas como referencia para generar alertas tempranas de posibles floraciones.

Actividad 4. Análisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo en la capa superficial (0-10 mts) y capa subsuperficial (10-20 mts).

La producción primaria y estructura de ensamblajes fitoplanctónicos en el caso de estuarios y fiordos, puede estar influenciado por diferentes factores como descargas de ríos, pluviometría o cercanía de glaciares, los cuales provocan varios efectos físicos, biológicos y químicos importantes como puede ser una fuerte estratificación vertical de la columna de agua y una fuerte advección horizontal, causada por los cambios de presión asociados a la entrada de agua dulce y el consiguiente ajuste de los campos baroclínicos. Estas características físicas tienen un efecto directo sobre la estructura y función de la comunidad planctónica, por lo que en un primer análisis podríamos esperar observar una gran diferencia



entre los dos estratos. Sin embargo, en este primer análisis no encontramos diferencias significativas entre las abundancias de ambas capas para ninguna de las tres regiones administrativas. Una de las explicaciones que podríamos anticipar es que, en estos ecosistemas, la entrada de agua dulce tiende a estabilizar la estratificación, sin embargo, la formación de giros turbulentos entre la capa superficial con baja salinidad y la capa salina subyacente pueden proveer un mecanismo para el transporte vertical tanto de calor, sal y nutrientes (Farmer & Freeland, 1983), además de fitoplancton y partículas entre las dos capas. Además, el forzamiento del viento (Gibbs, 2001) y el componente mareal semi-diurno puede oponerse a los efectos estabilizadores del agua dulce, constituyendo un mecanismo potencial importante de mezcla de la columna de agua superior en algunos ecosistemas estuarinos. En este sentido la mayor parte de los fiordos y canales del sur de Chile, presentan una estructura de dos capas separadas por una fuerte haloclina, pero la inmensa amplitud geográfica y ambiental hacen que los límites inferiores de estas puedan variar entre los 5 a los ~25 m de profundidad (Silva et al. 2006), por lo que nuestros dos estratos (0-10 mts y 10-20 mts) a pesar que están dentro del rango, pueden considerarse ficticios o como un artefacto de nuestro muestreo y no representan la realidad de la estratificación que podríamos encontrar en cada uno de los puntos de muestreo.

Otro punto que tenemos que tomar en cuenta es que este es el primer análisis exploratorio para ver si existen diferencias entre los dos estratos que se muestrean en el Programa de Monitoreo en Fiordos y por lo tanto comenzamos nuestro análisis desde la forma más general posible, por lo que para este análisis se utilizaron promedios anuales de la abundancia tanto para el total de diatomeas y dinoflagelados por cada estación de muestreo, para luego ser agrupada además por cada una de las regiones, por lo que mucha de la variabilidad que existe entre especies (tanto espacial como temporal) puede estar siendo enmascarada dentro del análisis, es por esto que no podemos concluir anticipadamente sin realizar otros análisis más finos. Sin embargo, estos análisis exploratorios nos sirven para tener una primera impresión de lo que sucede entre estos dos estratos y la variación regional de los ensambles fitoplanctónicos en los fiordos y canales del sur de Chile en cuanto a su abundancia y composición de especies.

Es interesante destacar la dominancia de especies en las tres regiones, en las cuales una o dos especies tanto de diatomeas como de dinoflagelados concentra la mayor parte de la abundancia del ensamble total para ambos estratos, donde especies como *Skeletonema* spp. o *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, presentes en las tres regiones y el dinoflagelado *Heterocapsa triquetra* presente mayoritariamente en las regiones de Aysén y Magallanes concentran gran parte de la abundancia total de ambos grupos.

Actividad 5. Variabilidad espacio-temporal de la temperatura y salinidad.

Los fiordos y canales de Chile (~41.5–55° S) es uno de los más grandes sistemas estuarinos del planeta y en el se realiza el monitoreo que se inició el 2006 y se extiende hasta la actualidad. La compleja topografía, compuesta por un gran número de pequeñas y grandes islas, fiordos, canales, senos y golfos, limita o controla el intercambio de agua entre las regiones costeras y el océano abierto, creando microambientes con condiciones oceanográficas que sustentan ecosistemas únicos.



En este sistema los aportes de agua dulce provienen principalmente de ríos que transportan nieve derretida y hielo que al mezclarse con el agua del océano Pacífico crean un gradiente de salinidad que se extiende desde la costa hacia el océano por alrededor de 4° (Saldías et al., 2018). Este hecho hace que los mares interiores presenten una circulación estuarina que está determinada por un flujo de salida de agua dulce superficial (agua estuarina, AE), y un flujo de entrada de agua oceánica subsuperficial (Silva et al. 1995).

En el mar interior de Chiloé, región de Los Lagos, esta característica es potenciada debido a que recibe aportes de agua dulce de fuertes precipitaciones ($2000\text{--}5000\text{ mm año}^{-1}$) y por la descarga de ríos al Estuario de Reloncaví y Canal Comau en invierno y principios de primavera (Dávila et al. 2002). Estos aportes marcan una disminución de la salinidad del área norte haciendo que sus valores ($8.1 \pm 5.0\text{ PSU}$) sean más bajos que los del área centro ($32.6 \pm 0.8\text{ PSU}$) y sur ($33.3 \pm 0.7\text{ PSU}$) lo cual ha quedado reflejado en la serie de datos histórica. León et al. (2013) mencionan además la estacionalidad que presenta el área del fiordo de Reloncaví, con salinidades aumentando continuamente hacia fines de invierno, tal como fue observado en el período 2009-2011 de la serie de datos del área norte.

En Aysén el Canal Moraleda alberga una gran cantidad de estaciones de las áreas norte y sur de la región. Este canal, además de ser uno de los principales hitos geográficos de toda el área, permite el intercambio y transporte de aportes de agua dulce que provienen principalmente de los fiordos Aysén y Puyuhuapi, pero también de la laguna San Rafael (Calvete & Sobarzo, 2011; Schneider et al., 2014). Estos aportes hacen que los valores medios de salinidad de estas áreas (norte: $28.8 \pm 3.0\text{ PSU}$ y sur: $27.9 \pm 1.7\text{ PSU}$) sean menores que los registrados en las áreas de Los Lagos. De las áreas de Aysén, Tortel fue la que presentó los valores más bajos ($24.2 \pm 3.5\text{ PSU}$), lo cual concuerda con lo reportado por Saldías et al. (2019) quienes describen el área alrededor del Golfo de Penas como el lugar con más baja salinidad entre los 44° y 48°S durante primavera y verano.

Entre las tres regiones, las dos áreas que presentaron los valores medios de salinidad más bajos fueron Tortel en Aysén, y el área norte de Magallanes ($25.5 \pm 3.1\text{ PSU}$). La baja salinidad de estas áreas está fuertemente influenciada por Campos de Hielo Norte ($46\text{--}47^\circ\text{S}$) y Campos de Hielo Sur ($48\text{--}52^\circ\text{S}$), en los cuales hay grandes glaciares que descienden hacia la línea de costa introduciendo agua dulce y grandes masas de hielo que luego de derretirse disminuyen la salinidad de agua de mar (Silva & Calvete, 2002). Sin embargo, son los ríos que descargan en los fiordos las principales fuentes de agua dulce continentales de esta vasta área. En ella se puede encontrar el río Baker ($1133\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$), el río Pascua ($753\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$) y el río Bravo ($112\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$), siendo el primero el río más grande de Chile en términos de volumen de agua (Aracena et al., 2011).

Las áreas Magallanes centro y Magallanes sur de tuvieron valores medios de salinidad ($29.8 \pm 1.7\text{ PSU}$ y $30.6 \pm 0.9\text{ PSU}$) mayores a los del área norte. Los valores del área centro concuerdan con los registros ($\sim 30^\circ\text{C}$) de Valdenegro & Silva (2003) quienes mencionan que constricción ubicada frente a la Isla Carlos III actúa como una barrera que impide en parte la entrada de agua de Agua Subantártica Modificada (ASAAM) y Agua Subantártica (ASAA) desde el Océano pacífico. Por su parte el área sur de la región comprende el canal Beagle, y sus estaciones están influenciadas por los océanos Pacífico en su lado oeste y por el Atlántico en su porción este, fluyendo principalmente desde el oeste a este.



En relación a la temperatura, esta variable presentó diferencias entre las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, vinculadas fuertemente a cambios latitudinales, donde los valores medios regionales fueron más bajos en el área de Magallanes sur y las más altas en el área norte de Los Lagos. La insolación ($W\ m^{-2}$) tiene un marcado patrón latitudinal y estacional. Los valores medios anuales son los más altos a $40^{\circ}\ S$ y los más bajos a $55^{\circ}\ S$, y en una escala estacional, los valores de insolación son más altos en primavera-verano (octubre-enero) que en invierno (junio-agosto) (Aracena et al., 2011). De igual manera, el rango de temperatura registrado en la serie de tiempo para Los Lagos y Magallanes concuerda con lo reportado por Miller (1976) quien menciona que la oscilación térmica en el extremo sur ($54^{\circ}\ S$) es alrededor de $5.5^{\circ}\ C$ y de $11^{\circ}\ C$ a los $42^{\circ}\ S$.

En la región de Magallanes las temperaturas además están influenciadas por fuertes vientos de componente noroeste u oeste, por un marcado gradiente de precipitación O-E y por limitación de luz (normalmente cubierto de nubes por 6-8 meses) (Iriarte et al., 2001; Schneider et al., 2003). En la subcuenca central del Estrecho de Magallanes, la cual va desde Isla Carlos III hasta la segunda Angostura, y la cual está compuesta por agua estuarina salada, podemos encontrar temperaturas superficiales de 7 a $7.5^{\circ}\ C$ (Valdenegro & Silva, 2003), valores que estarán en concordancia con los obtenidos en la serie de tiempo ($7.8 \pm 0.8^{\circ}\ C$). En otro estudio (Haro et al., 2013) se menciona para esta área temperatura de $7.7^{\circ}\ C$ y salinidades de $30,8$ psu. La capa superficial fría de la zona sur (Canal Beagle), por su parte, está influenciada por glaciares y fiordos provenientes de la cordillera de Darwin (Valdenegro & Silva, 2003). Estas áreas presentarían la estructura de doble capa que caracteriza a los canales del sur de Chile, la cual es provocada por la mezcla de aguas que se produce con el ingreso de Agua Subantártica del Pacífico (Valdenegro & Silva, 2003; Sievers, 2006). Es importante mencionar que en Magallanes sur (Canal Beagle) las temperaturas medias anuales registradas en la serie de tiempo han sufrido un sostenido incremento alcanzándose entre 2017 y 2019 temperaturas máximas históricas.

La distribución de la temperatura en las aguas interiores australes se presenta, en general, como una estructura de dos capas, una superficial donde la temperatura es variable, quienes mencionan valores de $17^{\circ}\ C$ para los períodos de verano y $9^{\circ}\ C$ para invierno, lo cual se ajusta con los valores medios ($12.6 \pm 0.8^{\circ}\ C$) obtenidos para el área de acuerdo a la serie de tiempo.

Actividad 6. Variabilidad interanual (10 años) de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum* en un fiordo del sur de Chile basado en un análisis de nicho realizado.

D. acuminata y *P. reticulatum* son especies ampliamente distribuidas, observadas en zonas templadas de todo el mundo (Reguera et al., 2012; Rodríguez et al., 2009). Las altas densidades de estas dos especies han sido reportadas previamente durante los meses de verano en los fiordos del sur de Chile (Uribe et al., 2001; Alves-de-Souza et al., 2014; Díaz et al., 2011; Clément et al., 1994). Aunque se observan con frecuencia en bajas densidades (<100 células L^{-1}) (Seguel et al., 2005; Lembeye et al., 1997; Uribe et al., 1995), sus floraciones se han considerado principalmente como eventos episódicos de ocurrencia errática. Aquí, presentamos por primera vez evidencia que indica que, lejos de tener una ocurrencia aleatoria, las floraciones de *D. acuminata* y *P. reticulatum* en el fiordo de Reloncaví (y probablemente otros sistemas de fiordos en el sur de Chile) son eventos periódicos estacionales relacionados con el clima y eventos hidrológicos de escala regional (es decir, ENSO, SAM). Además,



nuestros resultados mostraron que ambas especies tienen preferencias de nicho diferentes que explican su distribuci3n estacional e interanual.

Los resultados del an3lisis de nicho considerando los 10 a3os como per3odo de muestreo indicaron que la temperatura y el caudal del r3o Puelo fueron los principales factores ambientales asociados con la variabilidad estacional en el fiordo de Reloncav3 (envfit; $R^2 = 0.88$ y 0.55 , respectivamente) (Fig. 5.3.47A). Los valores reducidos del caudal de agua dulce durante los meses de verano estuvieron de acuerdo con la tendencia hist3rica reportada para este fiordo, caracterizada por un r3gimen bimodal de caudal con dos picos principales en invierno y primavera relacionados con la precipitaci3n y el deshielo, respectivamente (Castillo et al., 2016; Le3n-Mu3oz et al., 2013). Aunque las floraciones de *D. acuminata* y *P. reticulatum* se asociaron con un flujo bajo (Fig. 5.3.47D), la aparici3n restringida de *P. reticulatum* durante los meses de verano parec3a estar determinada principalmente por la preferencia de esta especie por las temperaturas del agua superficial entre 16°C y 18°C (Fig. 5.3.47C), como se ha reportado anteriormente para esta especie en experimentos de cultivo (Paz et al., 2006; R3der et al., 2012). Sin embargo, a pesar que se observaron temperaturas 3ptimas cada verano, las floraciones de *P. reticulatum* solo se observaron en a3os con valores del 3ndice Ni3o 3.4 superiores a -0.4 (Fig. 5.3.47J). La presencia de *D. acuminata* se asoci3 con un amplio rango de temperaturas (Fig. 5.3.47C) como se observa generalmente para esta especie en otras partes del mundo (Reguera et al., 2012). Estos resultados estuvieron en desacuerdo con los reportados previamente para el fiordo de Pitipalena ($38^{\circ}47'\text{S}$; $72^{\circ}56'\text{O}$), donde se sugiri3 una alta temperatura como factor desencadenante de las floraciones de esta especie (28). En cambio, se encontr3 que el bajo caudal del r3o Puelo es la principal variable que explica las altas densidades celulares de *D. acuminata* en el fiordo de Reloncav3 durante los meses de verano, aunque las floraciones de esta especie solo se observaron en a3os con valores del 3ndice Ni3o 3.4 inferiores a -0.72 (Fig. 5.3.47I).

Los 3rboles de inferencia condicional sugieren una relevancia jer3rquica de las variables que act3an a diferentes escalas temporales en la formaci3n de las floraciones de *D. acuminata* y *P. reticulatum*. Para ambas especies, los primeros nodos de los 3rboles estaban relacionados con las condiciones ambientales que eran m3s relevantes a escala estacional (es decir, bajo caudal para *D. acuminata* y alta temperatura para *P. reticulatum*), mientras que el segundo nodo representaba la variable principal que actuaba a escala interanual (Ni3o 3.4 para ambas especies) (Fig. 5.3.47 I-J). Los cambios en la importancia relativa de las condiciones ambientales de acuerdo con la escala temporal considerada se han informado previamente para otras comunidades microbianas (Hatosy et al., 2013; Alves-de-Souza et al., 2017), con la interacci3n entre los factores que act3an en escalas estacionales e interanuales que determinan la ventana de tiempo de ocurrencia de especies. En el caso espec3fico del fiordo de Reloncav3, nuestros resultados indican que, aunque la ventana de tiempo para la ocurrencia de *D. acuminata* y *P. reticulatum* est3n determinadas por variables que act3an a escala estacional, la formaci3n de sus floraciones se define en 3ltima instancia por las condiciones hidrol3gicas y climatol3gicas actuando a escala interanual.

La relevancia de la interacci3n ENSO / SAM para la aparici3n de floraciones de algas nocivas (FAN) en los fiordos del sur de Chile se demostr3 en un estudio anterior, donde explic3 la formaci3n de la FAN



más impresionante observada hasta la fecha en el sur de Chile causada por el fitoflagelado *Pseudochatonella verruculosa* (Dictyochophyceae) en febrero-marzo de 2016 (Leon-Muñoz et al. 2013). Como esta floración se observó justo después de la floración de *P. reticulatum* en enero de 2016 (la floración más densa de esta especie en toda la serie temporal de 10 años), ambos eventos probablemente se vieron afectados de manera similar por las condiciones climatológicas existentes. En esta oportunidad, Leon-Muñoz et al. (2013) propuso que la combinación entre el fuerte evento de El Niño y la fase positiva de SAM condujo a condiciones muy secas (tanto en términos de baja precipitación como de entrada reducida de agua dulce) asociadas con alta radiación y reducido viento del oeste, lo que a su vez resultó en debilitamiento de la estratificación vertical y la consecuente advección de más aguas salinas y ricas en nutrientes que finalmente determinaron la formación de la floración de *P. verruculosa*. Nuestros datos no respaldan por completo esta hipótesis, ya que (1) no se detectaron diferencias significativas entre los diferentes subconjuntos de verano con respecto a la precipitación o la frecuencia de Brunt-Väisälä (proxy de estratificación vertical) y (2) los niveles de caudal del río Puelo para el subconjunto 3 (eso incluye el verano 2016) en realidad fueron más altos en comparación con los otros subconjuntos de verano (*subkrandtest*; $p > 0.001$). Esta discrepancia podría explicarse por el tratamiento diferencial de los datos, así como por el intervalo considerado en ambos estudios: mientras que Leon-Muñoz et al. (2013) detectó una tendencia decreciente tanto para la precipitación como para el flujo del río en función de los valores anuales acumulados de estas variables en las últimas cinco décadas, este estudio basa sus conclusiones en la comparación de los valores mensuales solo en la última década. Del mismo modo, los análisis que refuerzan nuestras conclusiones se basaron en cientos de perfiles de CTD recopilados durante todo el período de estudio. Aunque está claro que existe una tendencia con respecto a la disminución de la precipitación y el caudal del río Puelo en el fiordo de Reloncaví (Castillo et al., 2016; Leon-Muñoz et al. 2013), nuestros resultados indican que no fue el factor que explica las floraciones de *P. verruculosa* y *P. reticulatum* durante el verano 2016. En cambio, las floraciones de ambas especies se explicaron por un aumento en la salinidad (como lo sugirieron Leon-Muñoz et al., 2013), probablemente causado por la profundización de la piconclina que facilitó la advección a la superficie de más agua salina y (supuestamente) rica en nutrientes.

De especial atención fue la aparición de la floración masiva del dinoflagelado *P. micans* en el verano de 2009 (~ 105 células L^{-1} ; (Alves-de-Souza et al., 2012), a pesar del hecho que las condiciones ambientales y climatológicas (bajo caudal del río Puelo y condiciones de La Niña) parecía ser favorable para las floraciones de *D. acuminata*. Esto fue interesante, ya que ambas especies parecen tener una superposición en sus subnichos realizados. La razón de esta discrepancia podría estar potencialmente relacionada con variables que no se consideraron en el presente estudio (por ejemplo, concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos). Si bien ambas especies son mixotróficas, muestran estrategias nutricionales muy distintivas: *P. micans* parece ser principalmente mixotrófico facultativo, mientras que *D. acuminata* se basa tanto en la fotosíntesis como en la alimentación del ciliado *Mesodinium* cf. *rubrum* (Reguera et al., 2012). Mientras que *D. acuminata* muestra una alta afinidad por las fuentes de nitrógeno regenerado (es decir, amoníaco y urea) (Seeyave et al., 2009; Hernández-Urcera et al., 2018), existe una relación positiva entre las floraciones de *M. cf. rubrum* y nitrato (Crawford, 1989). La información nutricional disponible para la cabeza del fiordo Reloncaví ha mostrado que las concentraciones de nitrato y ácido silícico fueron significativamente más bajas en el verano de 2009 en comparación con el



verano de 2008 ([Alves-de-Souza et al., 2014](#)), lo que podría haber favorecido potencialmente la formación de floración de *P. micans*.

6.4. Objetivo Específico 4

Actividad 1. Difundir periódicamente la información generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.

Sin duda, el trabajo de difusión debe tener diversas herramientas y estrategias que permitan abordar el trabajo con diversos grupos objetivos (niños, adolescentes, adultos, público en general, profesionales diversos, investigadores del área de las ciencias, etc.). A este público se debe mantener motivado, con una entrega de información periódica y bien estructurada, utilizando como canal de entrega informativa a las principales redes. De esta forma, el trabajo de difusión representa un desafío en términos de buscar canales que sean cada vez más transversales, para acceder a todo público y lograr que gran parte de ellos, pueda comprender las Floraciones de Algas Nocivas, particularmente en nuestro país, y sus efectos sobre la salud pública, y sobre el entorno social y económico. Este desafío involucra desarrollar material que permita transmitir de forma sencilla aspectos relevantes a todas las comunidades de las regiones afectadas por estos eventos. Las redes sociales, juegan un rol fundamental en transmitir la información, ya que permite acercar estos temas a un público general, además de llegar a un público masivo que de una u otra forma demuestran un interés en estos temas contingentes.

El diagnosticar los puntos débiles sobre el conocimiento de las FAN en distintos grupos objetivo (alumnos de enseñanza básica y media), requiere un trabajo constante para fortalecer la educación y el conocimiento de estos temas, que son relevantes a nivel local. La experiencia muestra que el trabajo debiera ser reiterado con los distintos grupos objetivo, y de esta forma reforzar aspectos claves acerca de las FAN. Así, sería posible disponer de un seguimiento y evaluar el aprendizaje, determinar las debilidades y fortalezas en los diversos grupos. Este sistema de trabajo debe ser aplicado a comunidades de pescadores artesanales de zonas afectadas por FAN, pero dada la heterogeneidad y la magnitud de las comunidades, este trabajo debe ser abordado inicialmente a través de una experiencia piloto. Otro grupo objetivo clave son los alumnos de la educación técnico profesional, particularmente aquellos que imparten formación sobre temas ligados a la pesca y la acuicultura. En trabajos previos, se ha visto que alumnos que cursan sus últimos años en esta educación, tienen un buen grado de conocimiento, lo cual se ha reflejado en un trabajo dinámico y constructivo. En alumnos de enseñanza media pertenecientes a la educación científico-humanista, y tomando como base el trabajo previo, el enfoque de los alumnos es muy distinto, ya que le otorgan mayor relevancia al impacto social de las mareas rojas en sus comunidades, resaltando los graves daños económicos en sus familias o personas cercanas que trabajan con recursos acuícolas.

El trabajo con alumnos de enseñanza básica, representa un desafío complejo y un universo muy amplio, se requieren herramientas distintas del nivel de escolaridad. De los dos ciclos que considera la educación general básica, de 1ro a 4to y desde 5to a 8vo, es factible, en principio conformar 4 grupos



de estudiante. Se pueden realizar grupos con alumnos de 1ero y 2do año, un segundo grupo, con alumnos de 3ro y 4to año, y un tercer grupo, con 5to y 6to, y un último grupo con 7mo a 8vo. En los dos primeros grupos, los contenidos deben ser abordados de manera simple, fijando determinados conceptos claves, como por ejemplo de tal forma que aprecien que las aguas presentan una diversidad de formas de vida, que son microscópicos y que no pueden ser visualizados a ojo desnudo. Es muy importante realizar un trabajo didáctico, usando herramientas lúdicas, tales como cuentacuentos, obras de teatro (no mayor a 10 minutos) para mantener atención e interés. Para los dos últimos grupos, el trabajo se puede abordar con herramientas interactivas (e.g. microscopio con pantalla). Esta actividad resulta exitosa, ya que logran acceder a la diversidad de formas y tamaños que es posible observar en una gota de agua. Estos grupos de alumnos tienen una mayor base de las ciencias naturales, lo cual permite complejizar su acercamiento al medio marino, dependiente del interés de los distintos grupos.

El trabajo en educación y capacitación estará condicionado por el grupo objetivo, no existiendo una estrategia única para introducir el tema de las FAN y sus efectos, lo cual hace evidente que el tema debe tratarse de manera diferenciada y considerando la heterogeneidad de los distintos grupos objetivo con los cuales se deban abordar los temas de difusión, capacitación y educación.

Por otro lado, el participar en ferias científicas y fiestas de la ciencia, ayudan a acercar el tema de las FAN a todo tipo de público, incentivando la imaginación en niños y adultos con paneles didácticos; a conversar sobre la historia de las FAN en nuestro país, con datos respaldados con información recogida desde los distintos puntos desde los cuales de manera sistemática se recogen muestras e información entre las regiones de Los Lagos y Magallanes. Estas instancias proveen la oportunidad para integrar conceptos de autocuidado, conductas responsables, como actuar en caso de intoxicaciones, cuáles son las principales toxinas que afectan la salud humana en nuestro país, entre otros aspectos.

Sin duda, el trabajo de difusión requiere la elaboración de material que sea interactivo para lograr la atención e interés de todo público. Por otra parte, el trabajo de educación y capacitación estará condicionado por la comunidad objetivo que se deba abordar, haciendo evidente que la temática no puede tratarse de manera homogénea y que no existe una estrategia predefinida para lograr los cambios conductuales y de conocimiento relativos al tema de las FAN y sus efectos.

6.5 Objetivo Específico 5:

Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva *Karenia selliformis* y de la aplicación de la técnica molecular de “metabarcoding” para el monitoreo de microalgas nocivas.

Actividad 1. Microalga nociva del género *Karenia*

Filogenia y morfología comparativa



La reconstrucción filogenética realizada, basada en un conjunto de secuencias de nucleótidos ribosomales de la gran subunidad (LSU), muestra evidencia de la agregación de *K. selliformis* (CREAN_KS01 y CREAN_KS02) dentro de un clado monofilético bien sustentado con las secuencias disponibles en GenBank (Fig.5.2). Los valores de divergencia entre 0.010 - 0.019 se han utilizado previamente para la descripción de los filotipos de *Karenia papilionaceae* (Yamaguchi et al., 2016). Los valores de divergencia de las regiones LSU rDNA D1-D2 para *K. selliformis* en este estudio apuntan de manera similar a la segregación de filotipo (Tabla 5.2) que está más fuertemente respaldada en comparación con otras especies de *Karenia*. Al-Kandari et al. (2011) no encontraron diferencias entre las secuencias de *K. mikimotoi* usando la misma región ribosómica, pero usando un enfoque filogenético diferente (árbol concatenado) propusieron la separación de *K. mikimotoi* en dos subespecies distintas. Al definir *K. selliformis*, Haywood et al. (2004) utilizaron la secuencia molecular de una cepa de aguas de Nueva Zelanda. Sin embargo, la filogenia molecular en este estudio apunta a una separación de la única secuencia previa para Chile (CH_1999) de las cepas aisladas en Nueva Zelanda (NZ), China (CN), Túnez (TN) y las secuencias chilenas en este trabajo. Esto coloca la secuencia chilena CH_1999 en la base del clado *K. selliformis* con los grupos neozelandeses, chinos y tunecinos derivados de ella. Por lo tanto, nuestros resultados indican que dentro del clado *K. selliformis* existen al menos tres filotipos diferentes (=ribotipos): 1) la secuencia chilena aislada en 1999 (CH_1999) (Filotipo I), 2) secuencias NZ (Filotipo II); y 3) CN / TN más las secuencias en este estudio (Phylotype III) (ver Tabla 5.2 para valores de divergencia genética entre los filotipos). Se requiere un esfuerzo adicional para detectar más cepas aisladas desde otros lugares, especialmente de Kuwait y México, donde *K. selliformis* solo se ha descrito morfológicamente (Steidinger et al., 2008b). Para la costa chilena, este estudio indica la posible aparición de al menos dos filotipos de *K. selliformis* (I y III) basados en la distancia genética de 0.017 entre la secuencia informada por Guillou et al., (2002) (CH_1999) y CREAN_KS01 / CREAN_KS02. Basado en el alto número de sustituciones de nucleótidos presentadas por CH_1999, esto también podría deberse a PCR o artefactos de secuenciación ya que la secuencia deriva de una extracción de una sola célula de una muestra fijada con Lugol.

Los filotipos de *K. selliformis* comparten características morfológicas tal como se presentan en la descripción de Haywood et al (2004): 1) Los tamaños de célula varían de 20-30µm de largo y 16-30µm transdiámetro, 2) cloroplastos de color verde amarillo con pirenoides, 3) Episoma generalmente más pequeño que el hiposoma, 4) Núcleo oblongo posicionado horizontalmente en el hiposoma, 5) Cingulum descendente desplazado por 1-1.5x el ancho cingular, y 6) Surco apical recto que desciende aproximadamente 1/5 de la célula longitud y se une al margen del surco derecho y con la intrusión del surco izquierdo generalmente estrecha pero abierta sobre la epíteca (Haywood et al., 2004; Hansen et al., 2004; Steidinger et al., 2008b; este estudio). Diferencias morfológicas entre los tres filotipos apuntan a: la compresión dorsal-ventral, la forma del hiposoma y la presencia o ausencia de poros en el lóbulo del hiposoma izquierdo. Ni las células patagónicas o tunecinas (filotipo III) se comprimen dorsoventralmente como lo describe Haywood et al. (2004) para la cepa de Nueva Zelanda (filotipo I). La excavación de hiposoma en cepas chilenas y tunecinas es mucho menos profunda que en cepas de Nueva Zelanda y del Golfo de México. Esta característica es notablemente pronunciada en las cepas chilenas donde el hiposoma se redondea con una concavidad poco notoria (Fig. 5.5.3F). Se ha descrito que *K. selliformis* de Nueva Zelanda y México posee un solo poro en el lado lateral izquierdo del



hiposoma (Haywood et al., 2004; Steidinger et al., 2008b). En contraste, Hansen et al. (2004) mostraron de uno a tres poros laterales en *K. selliformis* de Túnez, mientras que estos poros estaban ausentes en nuestras células chilenas (Fig. 5.5.3E).

Composici3n de pigmentos en *K. selliformis*

En este estudio, se descubri3 que *K. selliformis* CREAN_KS02 posee 19'-hexanoil-oxifucoxantina como el carotenoide primario (rico en acil-oxifucoxantina) como pigmento minoritario. Esto es similar a *K. selliformis* de Nueva Zelanda (Haywood, 2001), pero difiere de la floraci3n chilena de 1999, as3 como de las cepas GM94GAB de Túnez que conten3an fucoxantina como el carotenoide primario (rico en fucoxantina) (Carreto et al., 2001; Hansen et al., 2004) (Tabla 5.2). La cepa chilena CREAN_KS02, adem3s de los derivados de acil-oxifucoxantina, tambi3n produjo los pigmentos fotoprotectores del ciclo de la xantofila diadinoxantina y diatoxantina. La diadinoxantina se puede transformar en diatoxantina cuando se expone a un alto estr3s lum3nico (Lavaud et al., 2004) y la incidencia de estos pigmentos depende en gran medida del historial de luz.

Todos los *K. selliformis* conten3an el pigmento carotenoide di3ster de giroxantina (Tabla 5.3). Seg3n lo descrito originalmente por Bjørnland et al., (2000), se propuso el di3ster de giroxantina como un biomarcador para varias especies de la familia Kareniaceae (por ejemplo, *Karenia brevis* y *Karlodinium veneticum*). Sin embargo, este pigmento ha sido reportado desde pelagofitas (*Pelagococcus subviridis* y *Aureococcus anophagefferens*) y hapt3fitas (*Emiliania huxleyi*, *Chrysochromulina leadbeateri*) (Zapata, 2005). Por lo tanto, el di3ster de giroxantina ya no se puede usar como un car3cter qu3mico taxon3mico exclusivo para la detecci3n de *K. selliformis*, excepto cuando se encuentran en floraciones de alta biomasa y casi ausencia de pelag3fitas y hapt3fitas.

Toxicidad de *K. selliformis*

Ambas cepas chilenas de *K. selliformis* conten3an dos compuestos con la misma transici3n de masa de brevenal, un compuesto relacionado con brevetoxina. Sin embargo, una comparaci3n del espectro CID de brevenal los muestra como compuestos isob3ricos y aparentemente no est3n relacionados con el grupo de brevetoxina (Fig. 5.5.4). El mismo compuesto se ha encontrado recientemente en un extracto de la rafid3fita *Heterosigma akashiwo* (Gallardo-Rodr3guez et al., 2020), lo que da razones para suponer que este compuesto puede no ser espec3fico de una especie y puede encontrarse en varias especies de microalgas. Dado que no se ha publicado ning3n espectro CID brevenal ni el est3ndar purificado est3 disponible comercialmente, esta observaci3n puede ser 3til para los analistas qu3micos para evitar una posible identificaci3n err3nea de este compuesto desconocido como brevenal.

La ausencia de GYM en las cepas chilenas de *K. selliformis* representa el primer registro de cultivos de esta especie no productora de GYM y est3 de acuerdo con la no detecci3n de GYM en muestras de campo de la floraci3n masiva de 2018 en los fiordos patag3nicos (IFOP, datos sin publicar). Sin embargo, Trefault et al (2011) informaron sobre GYM A en muestras de agua en niveles bajos (<2 pg L⁻¹) a lo largo de un amplio transecto latitudinal a lo largo de la costa chilena entre 45.1737 S (Puerto Ays3n) y 39.5861 S (Temuco), lo que deja abierta la pregunta de los organismos fuente de GYM en aguas chilenas. La detecci3n de GYM en aguas chilenas tambi3n podr3a estar relacionada con el otro



productor conocido de GYM, el dinoflagelado *Alexandrium ostenfeldii*. Sin embargo, *A. ostenfeldii*, productor de GYM A, solo se ha informado desde un estuario cerrado en los Países Bajos (Martens et al., 2017). Además, hasta el momento no se ha informado de producción de GYM de cultivos chilenos de *A. ostenfeldii* (Salgado et al., 2015), y el origen de los GYM en aguas chilenas aún no se ha resuelto. Numerosas investigaciones han demostrado que una variedad de esteroides tóxicos y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) podrían ser responsables de la alelopatía y la citotoxicidad en las especies de *Karenia* (Arzul et al., 1995; Bodennec et al., 1995; Fossat et al., 1999; Sola et al., 1999; Gentien et al., 2007). Por ejemplo, Mooney et al. (2007) mostraron que *K. umbella*, *K. papilionacea*, *K. mikimotoi* y *K. brevis* producen lípidos, esteroides y PUFA que pueden actuar como compuestos citotóxicos. El presente estudio mostró que la cepa CREAN_KS02 produjo una gran abundancia de los ácidos grasos tetradecanoico (14: 0), c-linolénico (18: 3 ω 6) + octadecapentaenoico (18: 5 ω 3), palmítico (16: 0) y docosahexaenoico (22: 6 ω 3) -DHA ácidos (Tabla 5.4). Estos lípidos son altamente reactivos y se ha demostrado que son citotóxicos para las células branquiales de trucha arcoiris (Mooney et al., 2011; Dorantes-Aranda et al., 2015; Mardones et al., 2015). La toxicidad de los PUFA puede potenciarse mediante la peroxidación lipídica en presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Mooney et al., 2007). Las mediciones de ROS (como superóxido) en cepa CREAN_KS02 demostraron que esta cepa es un productor bajo de superóxido en comparación con la rafiidoficea ictiotóxica *Chattonella marina* de Australia y Japón (Tabla 5.5). La baja producción de superóxido por *K. selliformis* hace que sea improbable atribuir la citotoxicidad a la sinergia PUFA / ROS. Del mismo modo, las diferencias entre las cepas tóxicas y no tóxicas del haptófito ictiotóxico *Prymnesium polylepis* no pueden atribuirse simplemente a los lípidos (John et al., 2002). El evento de floración patagónica de 2018 fue extremadamente tóxico y mató a una amplia variedad de fauna marina, incluidos peces de cultivo (*Salmo salar*), erizos de mar (*Loxechinus albus*, *Arbacia dufresnii*), pulpo (*Enteroctopus megalocyathus*), estrellas de mar (*Henricia obesa*, *Meyenaster gelatinosus*) y varias especies de bivalvos (*Mesodesma donacium*, *Protothaca thaca*); por lo tanto, se debe buscar la participación de otras toxinas potentes.

Implicancias del crecimiento celular de *K. selliformis* para la dinámica de floración en la Patagonia chilena

La floración de Kareniaceae en 2018, que incluyó *K. selliformis*, cubrió cientos de kilómetros de área. La mayoría de los dinoflagelados, como *Karenia*, se replican muy lentamente, menos de una vez al día (Brand et al., 2012). En contraste, este estudio demostró que *K. selliformis* cepa CREAN_KS02 podía alcanzar altas tasas de crecimiento (máx. 1.46 ± 0.23 día⁻¹) y alta biomasa (máx. $11,800 \pm 904$ células mL⁻¹) cuando se cultivaba autotróficamente in vitro. Estas tasas de crecimiento están muy por encima de las reportadas para la cepa *K. selliformis* GM94GAB de Túnez (0.34 ± 0.14 día⁻¹) (Medhioub et al., 2009). La cepa chilena CREAN_KS02 creció en un amplio rango de salinidad y temperaturas (Fig. 5.12), lo que podría permitir el crecimiento de esta especie en las aguas costeras oceánicas, así como en los sistemas estuarinos. Las tasas de crecimiento más altas se alcanzaron a altas temperaturas, especialmente a las esperadas en veranos más cálidos excepcionales y alta salinidad (Fig. 5.12). También se ha informado una preferencia similar por la alta salinidad para *K. brevis* en el Golfo de México, donde las floraciones de esta especie se encuentran generalmente en aguas costeras, pero no en estuarios (Magaña y Villareal, 2006). Floraciones esporádicas de *K. brevis* han ocurrido en estuarios durante las sequías cuando la salinidad es más alta en el estuario (Steidinger e Ingle, 1972; Landsberg



y Steidinger, 1998). Excepcionales anomalías climáticas en los fiordos patagónicos durante el verano austral de 2016 condujeron a una floración masiva de la dictiofita ictiotóxica *Pseudochattonella verruculosa* y del dinoflagelado *Alexandrium catenella* (Trainer et al., 2019). Se especuló que la alta salinidad dentro de los fiordos era uno de los principales impulsores responsables del alto crecimiento de *P. verruculosa* en ese evento (Mardones et al., 2019). Estos resultados tienen importantes implicaciones para la mitigación y el manejo de las posibles floraciones de *K. selliformis* por parte de la industria del salmón, especialmente porque hasta ahora solo se han observado floraciones de *Karenia* en las aguas costeras oceánicas.

Actividad 2. Identificación en masas de microalgas mediante técnica molecular

Hasta ahora el análisis de las muestras se basa en la identificación de las especies mediante microscopia óptica, lo cual trae consigo limitaciones con los tiempos de análisis por muestra, la dificultad para distinguir especies crípticas, de pequeño tamaño (menor a 10 μm) o de baja abundancia, por lo tanto la implementación de la identificación molecular en el monitoreo es prioritaria, sobre todo si se consideran los impactos sociales, económicos y en la biodiversidad en escenarios generados por el cambio climático, ligados a las floraciones nocivas.

El acelerado progreso tecnológico asociado a la secuenciación de ADN de alto rendimiento y subsecuente análisis bioinformático ha abierto nuevas avenidas para la innovación tecnológica en estudios de biodiversidad. Los avances en las tecnologías “omics” (genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica) han demostrado su potencial aplicabilidad en la comprensión de las FAN y en las especies que la producen, incrementando la base de datos de los taxones nocivos (Hennon and Dyhrman 2020) lo cual ha permitido ampliar el conocimiento en la biodiversidad de los océanos y a su vez evidenciar lo que aún falta por describir (de Vargas 2015). Así, se ha demostrado su aplicabilidad en diferentes escenarios acuáticos como en el monitoreo de especies invasoras (Darling and Mahon, 2011; Comtet et al 2015), identificar los principales organismos involucrados en el flujo de carbono en zonas de surgencia (Gutiérrez et al 2018), identificación de las especies presentes en las aguas de lastre en embarcaciones marítimas (Shaw et al 2019), cuantificar los efectos de la salmonicultura en base a la carga bacteriana del sistema (Stoeck et al 2018), identificación de especies crípticas de diatomeas que no pueden ser identificadas mediante morfología, evidenciando diferencias significativas entre el número de especies detectadas molecularmente versus lo identificado por microscopia (Zimmermann et al 2015) y recientemente se ha discutido sobre la aplicabilidad al monitoreo de FAN (Sildever et al 2019).

Los resultados que se presentan describen la potencial utilización del “metabarcoding” como herramienta complementaria al monitoreo del fitoplancton en las Costas Chilenas. Los resultados son el corolario de la secuenciación masiva de muestras recolectadas en diez sitios de muestreo durante la primavera/verano 2018-2019.

El porcentaje de asignación taxonómica lograda en este estudio (57.3%) plantea la posibilidad de que el número de OTUs no asignadas (42.7%) podrían corresponder a especies no descritas para la costa



chilena. Ello motiva a continuar con la implementación de la identificación molecular para así describir organismos no conocidos, lo cual incluye el aislamiento e identificación de especies recogidas desde muestras ambientales.

Los resultados preliminares de este estudio permitieron identificar algunas especies que han generado floraciones en Chile, lo cual valida la utilización del “metabarcoding” como herramienta complementaria al monitoreo realizado por el Instituto de Fomento Pesquero, sin embargo y debido a la alta cantidad de información generada durante este tipo de estudios, se debe también describir la variación en otro grupo de organismos como las diatomeas las cuales también muestran abundancias elevadas durante periodos específicos, lo cual permitirá comprender las dinámicas comunitarias y poblacionales basados en la interacción de diferentes organismos en la red de sitios de muestreo de este programa, incluyendo otros grupos de organismos detectados en abundancias elevadas como los amebosoa, los cuales estuvieron sobre representados en enero 2019 en dos estaciones de muestreo (A02 y A11N1) ubicadas en la región de Aysén (Fig. 3.5.1; Anexo 2).

La utilización de esta técnica debe ser validada sobre la base de observaciones en periodos más extensos y considerando un número mayor de estaciones de muestreo, lo cual permita abarcar de mejor manera la heterogeneidad ambiental característica de la costa chilena en fiordos y canales, así como en zonas del océano expuesto donde las floraciones de nuevas especies han comenzado a ser recurrentes y se proyectan aún más frecuentes e intensas bajo escenarios de cambio climático y acidificación de los océanos. Por tanto, el uso de este tipo de herramientas es necesaria y complementaria al monitoreo tradicional, permite identificar potenciales especies nocivas que se encuentren en bajas concentraciones y que morfológicamente son difíciles de identificar debido a su pequeño tamaño o que sus caracteres taxonómicos no son distinguibles mediante microscopia de luz.

En base a lo anterior la técnica del “metabarcoding” continuará implementándose en la próxima etapa (2020-2021) del programa con la incorporación de 10 estaciones adicionales que forman parte del monitoreo regular y de forma complementaria se continuará con el diseño de marcadores específicos para la identificación y cuantificación de taxones nocivos mediante PCR cuantitativa (qPCR).



7. CONCLUSIONES

7.1. Objetivo Específico 1:

Vigilar y analizar las variaciones espacio-temporales de las toxinas paralizante (TPM), diarreica (TDM) y amnésica (TAM) en mariscos selectos, de la abundancia relativa de taxones nocivos, del fitoplancton cualitativo y cuantitativo y, determinar variables hidrográficas y meteorológicas en las estaciones del área de estudio

Actividad 1. Vigilar las variaciones espacio temporales del TPM, TDM y TAM en transvectores selectos en una red de estaciones que cubra representativamente los sectores que comprenden los subprogramas de Monitoreo Regular, Monitoreo de Fiscalización y Vigilancia, y Monitoreo de Raúl Marín Balmaceda.

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

- ✓ La información entre marzo 2019 y febrero 2020 muestra al igual que en la etapa previa, que en general los complejos tóxicos vigilados no mostraron niveles muy altos en la concentración de toxina paralizante, o una frecuencia alta de resultados positivos para toxinas lipofílicas y, la no detección de toxina amnésica.
- ✓ La no detección de toxina amnésica de los mariscos (TAM) se explicaría por la frecuencia de muestreo mensual, dado que la dinámica de esta toxina en los mariscos, por un incremento en unos pocos días, y una eliminación desde los mariscos en una o dos semanas, por lo que es muy poco probable que pueda ser detectada con la frecuencia de muestreo aplicada
- ✓ La toxina paralizante de los mariscos (TPM), se presentó con niveles más altos y de riesgo para la salud pública en el área sur de Aysén (hasta 5.453 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) y también, en el área norte de Magallanes, aunque con concentraciones sensiblemente más bajas (hasta 204 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) pues en el sur de Chiloé las concentraciones fueron similares con estimaciones hasta 200 $\mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$.
- ✓ Las estimaciones de TPM fueron concordantes con la abundancia de *Alexandrium catenella*, dado que fue más abundante y más frecuente en el área sur de Aysén y esta región en general, aunque fue detectada desde Chiloé centro hasta Magallanes sur.
- ✓ Las estimaciones de *A. catenella* fueron comparables a la etapa previa 2018-2019, en ambos periodos mostró una abundancia notablemente más baja que en los años previos, particularmente 2016-2017 y en menor grado que 2017-2018.



- ✓ Para las toxinas lipofílicas, mientras se mantenga la evaluación de éstas mediante bioensayo ratón, persistirá una fracción importante de falsos positivos a la TDM, dado que está confirmada la presencia de pectenotoxinas y yesotoxinas en los fiordos y canales chilenos,
- ✓ Los datos muestran abundancias importantes de especies del género *Dinophysis*, particularmente *D. acuminata*, presente en toda el área de estudio, y especialmente en Aysén, taxón que en los fiordos de Los Lagos y Aysén ha mostrado un perfil carente de toxina diarreica (ácido ocadaico y dinofisistoxinas), pero positivo a pectenotoxinas, una toxina lipofílica.
- ✓ Urge incorporar la espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida como técnica oficial para evaluar las toxinas lipofílicas presentes en Chile. Ello por cuanto además de los taxones de *Dinophysis*, están presentes *Protoceratium reticulatum* y *A. ostenfeldii*, todos taxones asociados a toxinas lipofílicas.

Actividad 3. Conocer la abundancia y distribución espacio temporal de especies que componen el fitoplancton en la red de estaciones de estudio.

- ✓ En este documento no se aborda esta actividad para el lapso marzo 2019 a febrero 2020. Para mayor información sobre los ensambles de fitoplancton para una serie de tiempo más extensa ver objetivo 3.

Actividad 4. Recolectar información hidrográfica y meteorológica en las estaciones de monitoreo de las 3 regiones.

- ✓ Las concentraciones de nutrientes para el período marzo 2019 – febrero 2020 son bajas y los aportes al sistema de fiordos son mayores en la región de Los Lagos que en las regiones de Aysén y Magallanes.
- ✓ Las concentraciones de nitrato-nitrito mostraron una gradiente con la latitud disminuyendo de norte a sur en ambos estratos y las mayores concentraciones, se presentaron en invierno y en el estrato 10-20m en la mayoría de los canales y fiordos del borde continental o muy cercanos a éste.
- ✓ Los fosfatos mostraron un comportamiento similar, tanto entre estratos como con la latitud; en primavera la concentración de nitrato-nitrito y fosfato, disminuyen en la superficie y la estratificación se intensifica, aumentando la diferencia entre ambos estratos (0-10m y 10-20m).
- ✓ La concentración de silicatos es mayor en 0-10m, y es decreciente con la latitud de norte a sur, las mayores otoño- invierno en 0-10m con estimaciones entre 5 y 60 μM en Los Lagos y una marcada disminución hacia el sur con estimaciones cercanas 15 μM en la región de Magallanes.



- ✓ Las temperaturas declinan con la latitud, las más altas en la región de Los Lagos y las más bajas en la región de Magallanes; en todas las regiones los registros más altos ocurrieron en verano, periodo en que además se advierten temperaturas más bajas mínimas y máximas en el estrato de 10-20m.
- ✓ Aunque los registros máximos de la salinidad fueron >33 PSU, las estimaciones muestran la condición estuarina del área de estudio con salinidades más bajas, dados los aportes de ríos, fusión glaciar y aportes de lluvia.
- ✓ En todas las regiones y en las cuatro estaciones del año, las salinidades fueron mayores en el estrato de 10-20m. y la densidad es función de la salinidad.

Actividad 5. Recolectar quistes de dinoflagelados en sedimentos superficiales de sitios selectos de las 3 regiones.

- ✓ Los sitios de Seno Canalad (A18N2) y Seno Medio (A18N3) ubicados en Aysén norte, podrían ser reservorios de quistes, la presencia de quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum* son frecuentes y generalmente, más abundantes que en el resto de las estaciones reportadas en distintos estudios de quistes realizados en el sur de Chile.
- ✓ Las altas abundancias de quistes en los sedimentos superficiales estarían dando cuenta, por un lado, de la alta capacidad de formación de quistes que tienen las poblaciones móviles de *A. catenella* y *P. reticulatum*, lo cual indica un éxito en sus estrategias de vida, y por otro lado, que la co-ocurrencia de ambas bajo las mismas condiciones sugiere una adaptación o aclimatación a sus regímenes ambientales.
- ✓ Se confirma qué entre las especies nocivas registradas en el sur de Chile, los quistes de *P. reticulatum* son los que presentan la mayor cobertura geográfica y los más abundantes.
- ✓ Entre los dinoflagelados inocuos, los de mayor cobertura geográfica, abundancia y diversidad de especies son aquellos del género *Protoperdinium*, reportándose en este estudio 12 especies y dos asociadas al género por su morfología.

7.2 Objetivo Específico 2:

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

- ✓ La utilización del modelo de *A. catenella*, sirve para la calibración y mejoras de las ecuaciones de mortalidad y crecimiento, sin embargo, se propone trabajar en un modelo más operativo que incluya el pronóstico de las floraciones de esta especie, a través de un modelo de partículas



que incorpore las tasas ecofisiológicas de esta microalga y que respondan a las condiciones ambientales.

- ✓ A partir del modelo conceptual de la distribución y abundancia de *A. catenella*, se han incorporado tasas estimadas y medidas, las cuales nos permiten mejorar la modelación de esta especie en distintas condiciones de temperatura, salinidad, luz y nutrientes. Sin embargo, es necesario continuar con las mediciones de estas variables para mejorar los ajustes entre cada una de ellas y el crecimiento. Además, se propone avanzar en tasas que hasta el momento no habían sido consideradas, como las tasas de germinación de quistes bajo distintas condiciones ambientales, las cuales nos permitirán mejorar el conocimiento de la dinámica de las floraciones de *A. catenella*.

7.3 Objetivo Específico 3:

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.

Actividad 1. Continuación análisis rutinario e incorporación de la representación gráfica.

Conglomerados de la densidad del fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados.

- ✓ Los conglomerados de estaciones definidos usando la densidad celular de fitoplancton y diatomeas, difieren notoriamente de los conglomerados formados para los dinoflagelados.
- ✓ Los resultados obtenidos, son consistentes con la hipótesis de formación de micro-hábitats y micro-nichos geográficos que favorecen o no la proliferación de distintos grupos de microalgas.
- ✓ La distribución geográfica de los conglomerados de estaciones resultantes, parecen ser reflejo de barreras y/o condiciones que ocurren anualmente (escala mensual de la base de datos utilizada), moduladas por ejemplo: canales exteriores conectados con aguas oceánicas, canales interiores conectados a aguas de glaciar, barreras físicas como islas Desertores en la región de Los Lagos; paso Kirke en la región de Magallanes norte; cabo Froward en el estrecho de Magallanes; zonas umbrales entre océano y fiordos, que difieren en las tres regiones.
- ✓ La densidad máxima promedio en el periodo octubre 2007-febrero 2019, alcanzada por el fitoplancton y diatomeas fue superior en 1-2 magnitudes a la de los dinoflagelados.
- ✓ Las mayores densidades de células promedio en el periodo octubre 2007-febrero 2019, de dinoflagelados ($>20.000 \text{ cél L}^{-1}$) ocurren en rangos de densidad celular promedio por periodo de años de fitoplancton y/o diatomeas, entre los 200.000 y 900.0000 cél L^{-1} , y en sectores geográficos distantes. En cambio, las mayores densidades de células promedio por periodo de



años de diatomeas ($>1.000.000$ cél L^{-1}) y fitoplancton, ocurren principalmente en un sector geográfico determinado.

Distribución espacio temporal de los taxones nocivos de dinoflagelados nocivos.

- ✓ Las variaciones espacio temporales de las abundancias de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, si bien presentan diversos rasgos semejantes en su distribución y abundancia, también muestran diferencias que no sólo son evidentes entre regiones administrativas sino también entre los sectores en que se ha dividido una región.
- ✓ Los resultados muestran que existen procesos de macro escala que regulan la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, pero al mismo tiempo las condiciones locales determinarían las particularidades de la distribución y abundancia de los taxones de dinoflagelados estudiados.
- ✓ En el sistema de fiordos y canales, las variaciones espacio temporales de la abundancia de *Alexandrium catenella* y *A. ostenfeldii* son diferentes, como también entre las especies de *Dinophysis acuminata* y *D. acuta*, no obstante que estas últimas muestran algunas semejanzas.
- ✓ Las variaciones espacio temporales de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum* muestran similitudes que sugieren que tienen determinados requerimientos ambientales similares, no obstante, las diferencias marcadas en sus respectivos ciclos de vida y uso diferencial del hábitat.

Actividad 2. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

- ✓ Se entregan evidencias para 4 de los 5 taxones considerados (*Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuminata*, *Alexandrium catenella* y *D. acuta*), en cuanto a que responden con las mismas tendencias de incremento o decremento, en períodos estacionales y sectores geográficos determinados, independientemente que las condiciones ambientales en el sistema de fiordos y canales, generen abundancias diferenciales con la latitud y en sectores específicos de cada región administrativa.
- ✓ Las abundancias relativas de los 5 taxones estudiados de *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*, muestran para el período estudiado un cambio ambiental de gran cobertura geográfica que separa un periodo, con bajas abundancias entre 2007 y 2011, de otro de mayor abundancia de estas microalgas, definido entre 2012 y 2018, con un período de transición representado por el otoño invierno de 2012.
- ✓ La realización de un análisis segregando la información por sectores geográficos localizados (e.g. Aysén sur) y para el período de primavera verano permitirán incrementar la correlación entre las variaciones de las abundancias de al menos 4 de los taxones estudiados, *P. reticulatum*, *D. acuminata*, *A. catenella* y *D. acuta*.



Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

- ✓ El análisis de la serie de tiempo entre el 2013 y 2018 de los sub-programas Fiscalización y Vigilancia y Raúl Marín Balmaceda para *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, reveló que:
- ✓ El estrato de profundidad 0-10 m presentó consistentemente una mayor abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas en comparación con el estrato 10-20 m.
- ✓ La abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas es diferente en las distintas zonas. Así, es más probable detectar a *A. catenella* y *P. reticulatum* en Melinka; y es más probable de detectar a *D. acuminata*, *D. acuta* y *A. ostenfeldii* en RMB.
- ✓ La abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas varió a través de los años, siendo el 2016 particularmente relevante para que se produzca una alta abundancia y probabilidad de presencia de *A. catenella*, *D. acuminata* y *P. reticulatum*.
- ✓ El rango de meses en que se puede observar una mayor abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas varió tanto en la amplitud como en los meses que este rango incluyó.
- ✓ Se identificaron estaciones que muestran consistentemente una mayor probabilidad de alcanzar altos niveles de AR para las distintas especies. Estas estaciones podrían ser utilizadas como referencias para la generación de alertas temprana de floraciones.

Actividad 4. Análisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo en los estratos 0-10 y 10-20m de profundidad.

- ✓ El análisis de la serie de tiempo entre el 2013 y 2018 de los sub-programas Vigilancia y Fiscalización y RMB para *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, reveló que:
- ✓ -El estrato de profundidad 0-10 m presentó consistentemente una mayor abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas en comparación con el estrato 10-20 m.
- ✓ -La abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas es diferente en las distintas zonas. Así, es más probable detectar a *A. catenella* y *P. reticulatum* en Melinka; y es más probable de detectar a *D. acuminata*, *D. acuta* y *A. ostenfeldii* en RMB.



- ✓ -La abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas varió a través de los años, siendo el 2016 particularmente relevante para que se produzca una alta abundancia y probabilidad de presencia de *A. catenella*, *D. acuminata* y *P. reticulatum*.
- ✓ -El rango de meses en que se puede observar una mayor abundancia y probabilidad de detectar la presencia de las especies nocivas varió tanto en la amplitud como en los meses que este rango incluyó.
- ✓ -Se identificaron estaciones que muestran consistentemente una mayor probabilidad de alcanzar altos niveles de AR para las distintas especies. Estas estaciones podrían ser utilizadas como referencias para la generación de alertas temprana de floraciones.

Actividad 5. Variabilidad espacio-temporal de la Temperatura y Salinidad.

- ✓ La serie de tiempo mostró que existe una diferenciación clara de temperatura media entre las tres regiones, registrándose el valor más alto en Los Lagos (11.8 ± 0.9 °C) el valor más bajo en Magallanes (8 ± 0.8 °C) y un valor intermedio en Aysén (10.7 ± 0.6 °C).
- ✓ La temperatura presenta a lo largo de la serie de tiempo una marcada estacionalidad en las tres regiones: luego de invierno la temperatura comienza a aumentar de manera importante en el mes de octubre alcanzando valores máximos anuales entre enero y febrero, para luego empezar a disminuir marcadamente en abril, alcanzando las temperaturas más bajas entre julio y agosto.
- ✓ Un incremento claro de temperaturas máximas y mínimas ha ocurrido en Magallanes sur (Canal Beagle) desde el año 2017, alcanzando temperaturas máximas históricas (2017: 10.4 ± 1.2 °C, 2018: 11 ± 1.6 , 2019: 12 ± 0.7 °C).
- ✓ La salinidad no presenta un patrón estacional tan claro durante la serie de tiempo en las áreas de las regiones de Los lagos, Aysén y Magallanes, sin embargo, algunos años muestran salinidades más elevadas durante meses de invierno y más bajas en primavera y verano.
- ✓ Las áreas de Tortel y Magallanes norte presentan las más bajas salinidades medias a lo largo de toda la serie de tiempo, probablemente como consecuencia de los importantes aportes de agua dulce provenientes de Campos de Hielo norte y sur, respectivamente.

Actividad 6. Variabilidad interanual de *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum*

- ✓ La variabilidad interanual de *D. acuminata* y *P. reticulatum* en el fiordo de Reloncaví estuvo fuertemente asociada a eventos climatológicos de escala regional (ej., El Niño y SAM), con años fríos (condición de La Niña) asociados a bajo caudal del Río Puelo que favorecieron el desarrollo de floraciones de *D. acuminata*, mientras que fuertes eventos del El Niño acoplados



a la fase positiva del índice SAM condujeron a floraciones de *P. reticulatum*. Estos resultados son relevantes ya que el cambio climático antropogénico ha sido reportado como causante de una tendencia hacia la fase positiva del SAM.

7.4 Objetivo específico 4

Difundir periódicamente la informaci3n generada por el programa orientada a la autoridad y a todo público.

- ✓ La difusi3n, capacitaci3n y educaci3n en torno a las floraciones de algas nocivas, toxinas marinas y sus efectos sobre la Salud Pública y las actividades productivas como la pesca artesanal, la acuicultura de pequeña escala y el turismo, representan un problemática muy vasta y muy compleja de abordar, para la cual no existe una estrategia única y preestablecida, no obstante con todos los grupos es recomendable una estrategia adaptativa según los intereses y los resultados que se logren a través del desarrollo de las actividades abordadas.
- ✓ Una estrategia amplia y profunda de difusi3n, capacitaci3n y educaci3n no puede ser abordada de manera profunda y exhaustiva por un programa de monitoreo como el que se informa en este estudio, sin embargo, permite puntualizar e identificar los aspectos claves que deben ser abordados, distinguir los grupos objetivo, apreciar las diferencias entre ellos, y apreciar las complejidades que surgen de grupos diversos y distribuidos en una geografía diversa, compleja y extensa.
- ✓ No obstante, es conveniente continuar el trabajo con grupos puntuales de distintos segmentos de la sociedad, para generar interacciones y evaluar el interés y grado de conocimiento acerca del tema, dada la relevancia que tienen estos eventos para la comunidad local.

7.5 Objetivo específico 5

Incorporar complementariamente resultados sobre la microalga nociva *Karenia selliformis* y de la aplicaci3n de la técnica molecular de "metabarcoding" para el monitoreo de microalgas nocivas.

Actividad 1. Microalga nociva del género *Karenia*

- ✓ Basado en estudios genéticos, morfológicos y fisiológicos de 12 clones originarios de diferentes costas del mundo, este estudio sugiere que *K. selliformis* constituye una "especie-complejo".
- ✓ Las cepas chilenas aisladas durante el evento tóxico del 2018 representan los primeros cultivos de *K. selliformis* que no producen ninguna variante de la toxina Gymnodimina. Este resultado



debe estimular el debate acerca del rol ecofisiológico de esta toxina, así como también deja abierta la pregunta de la especie de microalga responsable de la producción de este complejo tóxico en las costas chilenas.

- ✓ La alta citotoxicidad detectada en las cepas chilenas de *K. selliformis* representan una amenaza para la fauna marina silvestre y de cultivo, especialmente en un escenario de cambio climático debido a las altas tasas de crecimiento observadas en esta especie expuesta a altas temperaturas. Futuras investigaciones relacionadas a la toxicidad de *K. selliformis* deben enfocarse en fraccionamiento bioquímico para obtener un mayor entendimiento de los dos compuestos parecidos al Brevenal que fueron identificados en este estudio.

Actividad 2. Identificación en masas de microalgas mediante técnica molecular

- ✓ Los marcadores ocupados para analizar el fragmento de la región ribosomal V4 del gen 18S, son útiles para ser implementados en la técnica de metabarcoding para la identificación de microalgas.
- ✓ La implementación del metabarcoding al monitoreo es una herramienta complementaria a la microscopía que debido a que su nivel de detección permitiría identificar mayor número de especies (OTUs), sin embargo, dentro de sus limitaciones están los costos asociados a secuenciación que son elevados debido al alto número de estaciones de muestreo y su frecuencia implementadas en el programa de monitoreo.
- ✓ Los datos generados sirven para entender dinámicas comunitarias del fitoplancton a través del tiempo, como por ejemplo transición diatomeas-dinoflagelados, basándose en patrones de covariación de determinados géneros o familias, los cuales deben mostrar recurrencia en series de tiempo mayores, de manera que se puedan desarrollar hipótesis sobre floraciones de determinados grupos nocivos basado en este tipo de co-ocurrencias de grupos específicos.
- ✓ Se detectó un porcentaje de no asignación del 42.7% de OTUs en las cuales no se llegó a nivel de especie ni incluso a nivel de género, lo cual puede deberse a que estas OTUs correspondan a nuevas especies no detectadas hasta el presente o una segunda opción relacionada a análisis bioinformático, el cual debe ser más estricto en la asignación para reducir este porcentaje.
- ✓ La diversidad de microalgas presentes en fiordos y canales australes no ha sido explorada usando herramientas moleculares, por lo cual es probable que al estudiar otras áreas geográficas, el porcentaje de OTUs no asignadas a nivel de especie también aumente, por lo tanto implementar el metabarcoding en otras regiones geográficas serviría para determinar los niveles de diversidad en un gradiente latitudinal mayor.



8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Kandari, M.A., Highfield, A.C., Hall, M.J., Hayes, P., Schroeder, D.C., 2011. Molecular tools separate harmful algal bloom species, *Karenia mikimotoi*, from different geographical regions into distinct sub-groups. *Harmful Algae* 10, 636-643.

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

Alves de Souza, C., Varela, D., Navarrete, F., Fernández, P., Leal, P., 2008. Distribution, abundance and diversity of modern dinoflagellates cysts assemblages from southern Chile (43–548S). *Bot. Mar.* 51, 399–410.

Alves-de-Souza, C.; Varela, D.; Iriarte, J.L.; González, H.E.; Guillou, L. 2012. Infection dynamics of *Amoebophryidae* parasitoids on harmful dinoflagellates in a southern Chilean fjord dominated by diatoms. *Aquat. Microb. Ecol.* 66, 183–187.

Alves-de-souza, C., Varela, D., Cristobal, C., Iglesia, P. de La, Fernandez, P., Hippa, B., Hernandez, C., Riobo, P., Reguera, B., Franco, J.M., Diogéne, J., Garcia, C., Lagos, N., 2014. Seasonal variability of *Dinophysis* spp and *Protoceratium reticulatum* associated to lipophilic shellfish toxins in a strongly stratified Chilean fjord. *Deep Sea Res. Part II* 101, 152–162.

Alves-de-Souza, C.; Benevides, T.S.; Santos, J.B.; Von Dassow, P.; Guillou, L.; Menezes, M. 2017. Does environmental heterogeneity explain temporal β diversity of small eukaryotic phytoplankton? Example from a tropical eutrophic coastal lagoon. *J. Plankton Res.* 39, 698–714.

Alves-de-Souza, C., Iriarte, L., Mardones, J.I., 2019. Interannual Variability of *Dinophysis acuminata* and *Protoceratium reticulatum* in a Chilean Fjord: Insights from the Realized Niche Analysis. *Toxins (Basel)* 11, 1–23.

Anderson, D.M., 1998. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. In: Anderson, D.M., Cembella, A.D., Hallegraeff, G.M. (Eds.), *The Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 29–48.

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.M., Alpermann, T.J., Cembella, A.D., Collos, Y., Masseret, E., Montresor, M. 2012. The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 14: 10-35.

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

Aracena, C., Lange, C.B., Iriarte J.L., Rebolledo, L., Pantoja, S. 2011. Latitudinal patterns of export production recorded in surface sediments of the Chilean Patagonian fjords (41–55°S) as a response to water column productivity. *Continental Shelf Research* 31 (2011) 340–355

Arzul, G., Gentien, P., Bodennec, G., Toularastel, F., Youenou, A., Crassous, M.P., 1995. Comparison of toxic effects in *Gymnodinium* cf. *nagasakiense* polyunsaturated fatty acids. In: Lassus, P., Arzul, G., Erard, E., Gentien, P., Marcaillou, C. (Eds.), *Harmful Marine Algal Blooms. Technique et Documentation*, Lavoisier, Intercept Ltd., pp. 395–400.

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

Bjørnland, T., Fiksdahl, A., Skjtn, T., Krane, J., Liaaen-Jensen, S., 2000. Gyroxanthin- the first allenic acetylenic carotenoid. *Tetrahedron* 56, 9047–9056.

Bodennec, G., Gentien, P., Parrish, C.C., Arzul, G., Youenou, A., Crassous, M.P., 1995. Production of suspected lipid phycotoxins by *Gymnodinium* cf. *nagasakiense* in batch cultures. In: Lassus, P., Arzul, G., Erard, E., Gentien, P., Marcaillou, C. (Eds.), *Harmful Marine Algal Blooms. Technique et Documentation*, Lavoisier, Intercept Ltd., pp. 407–412.

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

Bokulich NA, Collins TS, Masarweh C, Allen G, Heymann H, Ebeler SE et al. (2016). Associations among Wine Grape Microbiome, Metabolome, and Fermentation Behavior Suggest Microbial Contribution to Regional Wine Characteristics. *Mbio* 7.

Brand, L.E., Campbell, L., Bresnan, E., 2012. *Karenia*: The biology and ecology of a toxic genus. *Harmful Algae* 14, 156-178.



Calvete, C., Sobarzo, M., 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 Res.* 31, 162–171.

Carignan, M.O.; Montoya, N.G.; Carreto, J.I. Long-term effects of ultraviolet radiation on the composition of pigment and mycosporine-like amino acids (MAAs) composition in *Alexandrium catenella*. In: Arzul, G., editor. *Aquaculture, environment and marine phytoplankton; Proceedings of a symposium held in Brest; 21–23 May 2001; 2002.* p. 191-207. (Actes Colloq. IFREMER)

Carreto, J.L., Seguel, M., Montoya, N.G., Clément, A., Carignan, M.O., 2001. Pigment profile of the ichthyotoxic dinoflagellate *Gymnodinium* sp. from a massive bloom in southern Chile. *J. Plankton Res.* 23 (10), 1171-1175.

Castillo, M.I., Cifuentes, U., Pizarro, O., Djurfeldt, L., and Cáceres, M. (2016). Seasonal hydrography and surface outflow in a fjord with a deep sill: the Reloncavi fjord, Chile. *Ocean Sci.* 12, 533-544.

Chang, F.H., Zeldis, J., Gall, M., Hall, J., 2003. Seasonal and spatial variation of phytoplankton assemblages, biomass and cell size from spring to summer across the north-eastern New Zealand continental shelf. *J. Plankton Res.* 35, 737-758.

Clarke, K.R. & R.N. Gorley. 2006. *PRIMER v6: User manual/tutorial*. PRIMER-E, Plymouth, UK, 192 pp.

Clarke, K.R., Somerfield, P.J. & R.N. Gorley. 2008. Exploratory null hypothesis testing for community data: similarity profiles and biota-environment linkage. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 366: 56 – 69.

Clément, A.; Lembeye, G.; Lassus, P.; Le Baut, C. Bloom superficial no tóxico de *Dinophysis* cf. *acuminata* en el fiordo Reloncaví. XIV Jornadas de Ciencias del Mar y I Jornada chilena de Salmonicultura. In *Proceedings of the XIV Jornadas de Ciencias del Mar & I Jornada Chilena de Salmonicultura*, Puerto Montt, Chile, 23–25 May 1994; p. 83.

Climate Explorer. Available online: <http://explorador.cr2.cl>

Collos Y, Bec B, Jauzein C, Abadie E, Laugier T, Lautier J, Pastoureaud A, Souchu P, Vaquer A. Oligotrophication and emergence of picocyanobacteria and a toxic dinoflagellate in Thau lagoon, southern France. *J Sea Research*. 2009; 61:68–75.

Comtet, T., Sandionigi, A., Viard, F., & Casiraghi, M. (2015). DNA (meta)barcoding of biological invasions: a powerful tool to elucidate invasion processes and help managing aliens. *Biological Invasions*, 17, 905-922.

CRAN: The Comprehensive R Archive Network. Available online: <https://cran.r-project.org/>



Dale, B. 1983. Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton". In: Fryxell, G. (ed.). *Survival Strategies of the Algae*. Cambridge University Press, Cambridge pp. 69–136.

Danovaro R, Carugati L, Berzano M, Cahill AE, Carvalho S, Chenuil A, Corinaldesi C, Cristina S, David R, Dell'Anno A, Dzhenbekova N., et al. 2016. Implementing and Innovating Marine Monitoring Approaches for Assessing Marine Environmental Status. *Front. Mar. Sci.* 3:213

Darling, J. and Mahon, A. (2011) From molecules to management: adopting DNA-based methods for monitoring biological invasions in aquatic environments. *ENVIRONMENTAL RESEARCH*. Academic Press Incorporated, Orlando, FL, 111(7):978-988.

Dávila, P.M., Figueroa, D., Müller, E., 2002. Freshwater input into the coastal ocean and its relation with the salinity distribution off austral Chile (35–55°S). *Continental Shelf Res.* 22, 521–534.

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

De Vargas, C. et al. 2015. Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science* 348. 1261605.

Deiner K, Bik HM, Machler E, et al, 2017. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Mol Ecol.* 2017; 26:5872–5895

DHI, 2016. Mike 3, User guide and reference manual. Danish Hydraulic Institute, Denmark

Díaz, P., Molinet, C., Cáceres, M.A., Valle-Levinson, A., 2011. Seasonal and intratidal distribution of *Dinophysis* spp. in a Chilean fjord. *Harmful Algae* 10, 155–164.

Díaz, P.A., Molinet, C., Seguel, M., Díaz, M., Labra, G., Figueroa, R. I. 2014. Coupling planktonic and benthic shifts during a bloom of *Alexandrium catenella* in southern Chile: Implications for bloom dynamics and recurrence. *Harmful Algae* 40: 9-22.

Dolédec, S.; Chessel, D.; Gimaret-Carpentier, C. Niche separation in community analysis: A new method. *Ecology* 2000, 81, 2914–2927.

Dorantes-Aranda, J.J., Waite, T.D., Godrant, A., Rose, A., Tovar, C.D., Woods, G.M., Hallegraeff, G.M., 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., 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.



- Dray, S.; Dufour, A.-B. The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *J. Stat. Softw.* 2007, 22, 1–20.
- Edwardsen, B., Shalchian-Tabrizi, K., Jakobsen, K. S., Medlin, L. K., Dahl, E., Brubak, S., Paasche, E., 2003. Genetic variability and molecular phylogeny of *Dinophysis* species (Dinophyceae) from Norwegian waters inferred from single cell analyses of rDNA. *J. Phycol.* 39, 395–408.
- Farmer, D.M., Freeland, H.J., 1983. The physical oceanography of fjords. *Progress in Oceanography* 12, 147–220.
- Fossat, B., Porthé-Nibelle, J., Sola, F., Masoni, A., Gentien, P., Bodennec, G., 1999. Toxicity of fatty acid 18:5n3 from *Gymnodinium* cf. *mikimotoi*: II intracellular pH and K⁺ uptake in isolated trout hepatocytes. *J. Appl. Toxicol.* 19, 275–278.
- Gallardo-Rodríguez, J. J., Astuya-Villalón, A., Avello, V., Llanos-Rivera, A., Krock, B., Agurto-Muñoz, C., Sánchez-Mirón, A., García-Camacho, F., 2020. Production of extracts with anaesthetic activity from the culture of *Heterosigma akashiwo* in pilot-scale photobioreactors. *Algal Res.* 45, 101760.
- Garreaud, R.D., 2018. Record-breaking climate anomalies lead to severe drought and environmental disruption in western Patagonia in 2016. *Climate Research.* 74, 217–229.
- Gentien, P., Lunven, M., Lazure, P., Youenou, A., Crassous, M.P., 2007. Motility and autotoxicity in *Karenia mikimotoi* (Dinophyceae). *Philos. Trans. R. Soc. B.* 362, 1937–1946.
- GEOHAB, 2001. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, Science Plan. P. Glibert and G. Pitcher (eds). SCOR and IOC, Baltimore and Paris, 86 pp.
- Gibbs, M.T., 2001. Aspects of the structure and variability of the low salinity-layer in Doubtful Sound, a New Zealand fiord. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 35, 59–72.
- Giner, C. R., et al. 2019. Quantifying long-term recurrence in planktonic microbial eukaryotes. *Mol. Ecol.* 28: 923–935. doi:10.1111/mec.14929
- Gómez, F. 2005. A list of free-living dinoflagellate species in the world's oceans. *Acta Bot. Croat.* 64(1): 129–212.
- Guillou, L., Bachar, D., Audic, S., Bass, D., Berney, C., Bittner, L., ... Christen, R. (2013). The Protist Ribosomal Reference database (PR2): A catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic Acids Research*, 41, D597–D604.



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

Guillard, R.R.L., Ryther, J.H., 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Can. J. Microbiol.* 8, 229–239.

Gutiérrez-Rodríguez, A.E., Stukel, M.R., Santos, A.L., Biard, T., Scharek, R., Vaultot, D., Landry, M.R., & Not, F. (2018). High contribution of Rhizaria (Radiolaria) to vertical export in the California Current Ecosystem revealed by DNA metabarcoding. *The ISME Journal*, 13, 964-976.

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-Subsecretaría de Pesca.

Guzmán, L., G. Vidal, G. Pizarro, X. Vivanco, L. Iriarte, C. Alarcón, V. Sepúlveda, S. Mercado, H. Pacheco, P. Mejías, P. Salgado, M. Palma, C. Espinoza, E. Fernández-Niño, J. Monsalve, C. Zamora, P. Hinojosa. 2011. Manejo y monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, IV etapa. Informe Final. 16 p. + Figuras + Tablas + Anexos Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Guzmán, L., Labra, G. Salgado, P. 2013. Total distribución y abundancia del fitoplancton nocivo y quistes de resistencia de dinoflagelados en sitios selectos del sureste de la Isla de Chiloé (2012-2013). Informe Final. 43 p. + Figuras + Tablas + Anexos. Convenio de Asesoría Integral para la Toma de Decisiones en Pesca y Acuicultura - Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Guzmán, L. *et al.* 2016. Informe Final Convenio de Desempeño 2015, Programa de Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, Etapa IX 2015-16, Tomo I. Subsecretaría de Economía y EMT, Chile, julio 2016. IFOP, Valparaíso, 102 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.



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.

Guzmán, L., O. Espinoza, P. Carbonell, R. Martínez, J. Mardones, G. Pizarro, P. Salgado, G. Fuenzalida, E. Pinilla, V. Besoain, E. Cascales, M. Palma, G. Labra, M. Calderón, L. López, J. Cáceres, K. Correa, L. Iriarte, V. Muñoz, M.F. Cornejo, H. Pacheco, C. Alarcón, C. Toro, L. Ramírez, B. Olivares, R. González, C. Soto, C. Zamora. 2019. Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, etapa XII 2018-19. Informe Final, 107 p. + Figuras, Tablas, Anexos. Subsecretaría de Economía y EMT.

Haro, D., Aguayo, A., Acevedo, J. 2013. Características oceanográficas y biológicas de las comunidades del plancton y neuston del área marina costera protegida Francisco Coloane: una revisión. An. Inst. Patagon. 41(1): 77-90

Hatosy, S.M.; Martiny, J.B.; Sachdeva, R.; Steele, J.; Fuhrman, J.A.; Martiny, A.C. Beta diversity of marine bacteria depends on temporal scale. Ecology 2013, 94, 1898–1904.

Haywood, A.J., Steidinger, K.A., Truby, E.W., 2004. Comparative morphology and molecular phylogenetic analysis of three new species of the genus *Karenia* (Dinophyceae) from New Zealand. J. Phycol. 40, 165–179.

Hennon, G. and Dyhrman, S., (2020) "Progress and promise of omics for predicting the impacts of climate change on harmful algal blooms." *Harmful algae* 91 (2020): 101587

Hernández-Urcera, J.; Rial, P.; García-Portela, M.; Lourés, P.; Kilcoyne, J.; Rodríguez, F.; Fernández-Villamarín, A.; Reguera, B. Notes on the cultivation of two mixotrophic *Dinophysis* species and their ciliate prey *Mesodinium rubrum*. Toxins 2018, 10, 505.

Holland, S., 2008. Non-Metric Multidimensional Scaling. Department of Geology, University of Georgia. Athens, GA. 30602-2501. www.uga.edu/~strata/software/pdf/mdsTutorial.pdf

Huovinen, P., Gomez, I., 2011. Spectral attenuation of solar radiation in Patagonian fjord and coastal waters and implications for algal photobiology. Cont. Shelf Res. 31, 254–259.

Hothorn, T.; Zeileis, A. partykit: A modular toolkit for recursive partitioning in R. J. Mach. Learn. Res. 2015, 16, 3905–3909.



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

Iriarte, J.L., Kush, A., Osses, J., Ruiz, M. 2001. Phytoplankton biomass in the sub-Antarctic area of the Straits of Magellan (53°S), Chile during spring–summer 1997/1998. Polar Biol. 24:154–162.

Jennings, E.; Jones, S.; Arvola, L.; Staehr, P.A.; Gaiser, E.; Jones, I.D.; Weathers, K.; Weyhenmeyer, G.A.; Chiu, C.-Y.; de Eyto, E. Effects of weather-related episodic events in lakes: An analysis based on high frequency data. Freshw. Biol. 2012, 57, 589–601.

John, U., Tillmann, U., Medlin, L.K., 2002. A comparative approach to study inhibition of grazing and lipid composition of a toxic and non-toxic clone of *Chrysochromulina polylepis* (Prymnesiophyceae). Harmful Algae 1, 45-57.

Karasiewicz, S., Breton, E., Lefebvre, A., Fariñas, T.H. & Lefebvre, S. 2018. Realized niche analysis of phytoplankton communities involving HAB: *Phaeocystis* spp. as a case study. Harmful Algae, 72: 1-13.

Kremp, A., 2013. Diversity of dinoflagellate life cycles: facets and implications of complex strategies. In; Lewis, J.M., Marret, F. & Bradley, L.(eds). Biological and Geological Perspectives of dinoflagellates. The Micropaleontological Society, Special Publication. Geological Society, London 197-205

Lara, A.; Villalba, R.; Urrutia, R. A 400-year tree-ring record of the Puelo River summer-fall streamflow in the Valdivian Rainforest eco-region, Chile. Clim. Chang. 2008, 86, 331–356.

Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliams, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics 23, 2947-2948.

Landsberg, J.H., Steidinger, K.A., 1998. A historical review of *Gymnodinium breve* red tide implicated in mass mortalities of the manatee (*Trichechus manatus latirostris*) in Florida, USA. In: Reguera, B., Bianco, J., Fernandez, M.L., Wyatt, T. (Eds.), Harmful Algae Proc. VII Int. Conf. on Harmful Algae, Vigo, 1997, Xunta de Galicia, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp. 97–100.

Lavaud, J., Rousseau, B., Etienne, A-L., 2004. General features of photoprotection by energy dissipation in planktonic diatoms (Bacillariophyceae). J. Phycol. 40, 130-137.

León, J., Marcé, R. & Iriarte, J.L. 2013. Influence of hydrological regime of an Andean river on salinity, temperature and oxygen in a Patagonia fjord, Chile. New Zeal. J. Mar. Fresh. 47(4): 515-528.

Levandowsky, M. & P. Kaneta. 1987. Behaviour in dinoflagellates. In: F.J.R. Taylor (ed.), The biology of dinoflagellates, Oxford: Blackwell Scientific, pp. 330–397.



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

Marret, F. & Zonneveld, K. 2003. Atlas of modern organic-walled dinoflagellate cyst distribution. *Rev. Paleobot. Palynol.* 125: 1-200.

Matsuda A, Nishijima T, Fukami K. Effects of nitrogenous and phosphorus nutrients on the growth of toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1999; 65:847–855.

Matsuoka K & Y Fukuyo. 2000. Guía técnica para el estudio de quistes de dinoflagelados actuales, 30 pp. WESTPAC-HAB/WESTPAC/IOC, Unesco, Paris.

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.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.

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.

Medhioub, A., Medhioub, W., Amzil, Z., Sibat, M., Bardouil, M., Ben Neila, I., Mezghani, S., Hamza, A., Lassus, P., 2009. Influence of environmental parameters on *Karenia selliformis* toxin content in culture. *Cah. Biol. Mar.* 50, 333-342.

Martens, H., Tillmann, U., Harju, K., Dell'Aversano, C., Tartaglione, L., Krock, B., 2017. Toxin variability estimations of 68 *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) strains from the Netherlands reveal a novel abundant gymnodimine. *Microorganisms* 5(2), 29.

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.

Mertens, K., Gu, H., Gurdebeke, P.R., Takano, Y., Clarke, D., Aydin, H., Li, Z., Pospelova, V., Shin, H.H., Li, Z., Matsuoka, K., Head, M. 2019. A review of rare, poorly known, and morphologically problematic extant marine organic-walled dinoflagellate cyst taxa of the orders Gymnodiniales and Peridinales from the Northern Hemisphere. *Mar. Micropaleontology*, In Press.

Miller, A. 1976. The climate of Chile. In: Schwerdtfeger, W. (eds), world survey of Climatology vol. 12 Elsevier Amsterdam pp 113-145.



Montero, P., Daneri, G., González, H., Iriarte, J.L., Tapia, F., Lizárraga, L., Sánchez, N., Pizarro, O. 2011. Seasonal variability of primary production in a fjord ecosystem of the Chilean Patagonia: Implications for the transfer of carbon within pelagic food webs. *Cont. Shelf Res.* 31: 202-215.

Mooney, B.D., Nichols, P.D., de Salas, M.F., Hallegraeff, G.M., 2007. Lipid, fatty acid and sterol composition of eight species of Kareniaceae (Dinophyta): chemotaxonomy and putative phycotoxins. *J. Phycol.* 43, 101-111.

Mooney, B.D., Dorantes-Aranda, J.J., Place, A.R., Hallegraeff, G., 2011. Ichthyotoxicity of gymnodinioid dinoflagellates: PUFA and superoxide effects in sheepshead minnow larvae and rainbow trout gill cells. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 426, 213–224.

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.

Oksanen, J.; Kindt, R.; Legendre, P.; O'Hara, B.; Henry, M.; Stevens, H. The vegan package. *Commun. Ecol. Package* 2007, 10, 631–637.

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

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

Paz, B.; Vázquez, J.A.; Riobó, P.; Franco, J.M. 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.* 2006, 62, 286–300.

Penna, A., Galluzzi, L. (2013). The quantitative real-time PCR applications in the monitoring of marine harmful algal bloom (HAB) species. *Environ Sci Pollut Res* 20:6851–6862.

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, 223–227.

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

Posada, D., 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25, 1253–1256.

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.



Ralston DK, Keafer BA, Brosnahan ML and Anderson DM. 2014. Temperature dependence of an estuarine harmful algal bloom: Resolving interannual variability in bloom dynamics using a degree day approach. *Limnol Oceanogr* 59:1112–1126

Rees, H., Maddison, B., Middleditch, D., Patmore, J. and Gough, K. (2014). The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology* Vol. 51, No. 5, pp. 1450-1459

Reguera, B.; Velo-Suárez, L.; Raine, R.; Park, M.G. Harmful Dinophysis species: A review. *Harmful Algae* 2012, 14, 87–106.

Röder, K.; Hantzsche, F.M.; Gebühr, C.; Miene, C.; Helbig, T.; Krock, B.; Hoppenrath, M.; Luckas, B.; Gerds, G. Effects of salinity, temperature and nutrients on growth, cellular characteristics and yessotoxin production of *Protoceratium reticulatum*. *Harmful Algae* 2012, 15, 59–70.

Rodríguez, J.J.G.; Miron, A.S.; García, M.d.C.C.; Belarbi, E.H.; Camacho, F.G.; Chisti, Y.; Grima, E.M. Macronutrients requirements of the dinoflagellate *Protoceratium reticulatum*. *Harmful Algae* 2009, 8, 239–246.

Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahe F (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *Peerj* 4.

Sanz, N., García-Blanco, A., Gavalás-Olea, A., Loures, P., Garrido, J.L., 2015. Phytoplankton pigment biomarkers: HPLC separation using a pentafluorophenyl octadecyl silica column. *Methods in Ecology and Evolution* 6, 1199-1209.

Saldías, G.S., Sobarzo, M., Quiñones, R., 2018. Freshwater structure and its seasonal variability off western Patagonia. *Prog. Oceanogr.* 174, 143–153.

Salgado, P. 2011. Distribución espacio-temporal de ensambles de quistes de dinoflagelados productores de floraciones algales nocivas en sedimentos costeros del sur de Chile (Región de Los Lagos) durante los últimos ~150 años. Tesis de Magíster, Universidad de Concepción, 130 pág.

Salgado, P., Riobó, P., Rodríguez, F., Franco, J.M. & Bravo, I. 2015. Differences in the toxin profiles of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) strains isolated from different geographic origins: Evidence of paralytic toxin, spirolide, and gymnodimine. *Toxicon* 103: 85–98.

Schneider, C., Glaser, M., Kilian, R., Santana, A., Butorovic, N., 2003. Weather observations across the southern Andes at 53°S. *Phys.Geog.* 24(2): 97–119.

Schneider, W., Pérez-Santos, I., Ross, L., Bravo, L., Seguel, R., Hernández, F., 2014. On the hydrography of Puyuhuapi Channel, Chilean Patagonia. *Prog. Oceanogr* 128, 8–18.



Seeyave, S.; Probyn, T.; Pitcher, G.; Lucas, M.; Purdie, D. Nitrogen nutrition in assemblages dominated by *Pseudo-nitzschia* spp., *Alexandrium catenella* and *Dinophysis acuminata* off the west coast of South Africa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2009, 379, 91–107.

Seguel, M., Sfeir, A., 2010. Distribución de las toxinas marinas y quistes de dinoflagelados tóxicos en los canales occidentales de la región de Aysén. *Cienc. Tecnol. Mar.* 33(1): 43-55.

Seguel, M., Sfeir, A., Alvornoz, V. 2010. Floraciones de microalgas tóxicas en la región de Aysén y su relación con larvas de peces.

Seguel, M., Sfeir, A., González, J., Díaz, P., Molinet, C. & Labra, G. 2011. Quistes de dinoflagelados en sedimentos marinos del sur de Chile con énfasis en *Alexandrium catenella* y *Protoceratium reticulatum*. *Cienc. Tecnol. Mar.* 34(1-2): 5–17.

Shaw, J.L., Weyrich, L.S., Hallegraeff, G., & Cooper, A. (2019). Retrospective eDNA assessment of potentially harmful algae in historical ship ballast tank and marine port sediments. *Molecular ecology*, 28 10, 2476-2485.

Sievers, H. A. 2006. Temperatura y salinidad 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*. (pp. 31-36). Valparaíso: Comité Oceanográfico Nacional.

Silvever, S., Kawakami, Y., Kanno, N., Kasai, H., Shiimoto, A., Katakura, S., & Nagai, S. (2019). Toxic HAB species from the Sea of Okhotsk detected by a metagenetic approach, seasonality and environmental drivers. *Harmful algae*, 87, 101631.

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. & D. Guzmán 2006. Condiciones oceanográficas físicas y químicas, entre Boca del Guafo y Fiordo Aysén (Crucero CIMAR 7 Fiordos). *Ciencia y Tecnología del Mar* 29, 25-44.

Silva, N., H.A. Sievers & R. Prado. 1995. Características oceanográficas y una proposición de circulación, para algunos canales australes de Chile entre 41° 20' S, 46° 40' S. *Rev. Biol. Mar.*, Valparaíso, 30(2): 207-254.

Silva, N., C. Calvete & H. A. Sievers. 1998. Masas de agua y circulación general para algunos canales australes chilenos entre Puerto Montt y Laguna San Rafael (Crucero CIMAR-Fiordo 1). *Ciencia y Tecnología Marina* 21: 17–48.



- Silva, N., C. Calvete & H. A. Sievers. 1997. Características oceanográficas físicas y químicas de canales australes chilenos entre Puerto Montt y laguna San Rafael (Crucero CIMAR-Fiordo 1). *Cienc. Tecnol. Mar*, 20: 23-106.
- Sola, F., Masoni, A., Fossat, B., Perthe-Nibelle, J., Gentien, P., Bodennec, G., 1999. Toxicity of fatty acid 18:5n3 from *Gymnodinium* cf. *mikimotoi*: morphological and biochemical aspects on *Dicentrarchus labrax* gills and intestine. *J. Appl. Toxicol.* 19, 279–284.
- Spatharis S, Danielidis DS, Tsirtsis G. Recurrent *Pseudo-nitzschia calliantha* (Bacillariophyceae) and *Alexandrium insuetum* (Dinophyceae) winter blooms induced by agricultural runoff. *Harmful Algae*. 2007; 6:811–822.
- Steidinger, K.A., Landsberg, J.H., Flewelling, L.J., Kirkpatrick, B.A., 2008a. Toxic dinoflagellates. In: Walsh, P.J., et al. (Eds.), *Oceans and Human Health*. Academic Press, Burlington, MA, pp. 239–256.
- Steidinger, K.A., Ingle, R.M., 1972. Observations on the 1971 summer red tide in Tampa Bay, Florida. *Environ. Lett.* 3 (4), 271–278.
- Steidinger, K.A., Wolny, J.L., Haywood, A.J., 2008b. Identification of *Kareniaceae* (Dinophyceae) in the Gulf of Mexico. *Nova Hedwigia, Beiheft* 133, 269-284.
- Stoeck, T., Frühe, L., Forster, D., Cordier, T., Martins, C.I., & Pawlowski, J. (2018). Environmental DNA metabarcoding of benthic bacterial communities indicates the benthic footprint of salmon aquaculture. *Marine pollution bulletin*, 127, 139-149.
- Sullivan JM, Swift E, Donaghay PL, Rines JEB. Small-scale turbulence affects the division rate and morphology of two red-tide dinoflagellates. *Harmful Algae*. 2003; 2(3):183–199.
- Trainer, V.L., Moore, S.K., Hallegraeff, G., Kudela, R.M., 2019. Pelagic harmful algal blooms and climate change: Lessons from nature's experiments with extremes. *Harmful Algae* 91.
- Trefault, N., Krock, B., Delherbe, N., Cembella, A., Vásquez, M., 2011. Latitudinal transects in the southeastern Pacific Ocean reveal a diverse but patchy distribution of phycotoxins. *Toxicon* 58, 389-397.
- UNESCO. 1996. Design and Implementation of Some Harmful Algal Monitoring Systems. Intergovernmental Oceanographic Commission (IOC) 44:1-102.
- Uribe, J.C.; García, C.; Rivas, M.; Lagos, N. First report of diarrhetic shellfish toxins in Magellanic Fjords, southern Chile. *J. Shellfish Res.* 2001, 20, 69–74.
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton. *Methodik. Mitt. int. Verein. Theor. angew. Limnol.* 9, 38 p.



Valdenegro, A., Silva, N. 2003. Caracterización física y química de la zona de canales y fiordos australes de Chile entre el Estrecho de Magallanes y Cabo de Hornos (CIMAR 3 Fiordos). *Cienc. Tecnol. Mar.* 26(2): 19–60.

Watras, C.J., Chisholm, S.W., Anderson, D.M., 1982. Regulation of growth in an estuarine clone of *Gonyaulax tamarens* Lebour: salinity-dependent temperature responses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 62 (1), 25–37.

Wickham, H. ggplot2—Elegant graphics for data analysis. *J. Stat. Softw.* 2010, 35, 65–88.

Yamaguchi, H., Hirano, T., Yoshimatsu, T., Tanimoto, Y., Matsumoto, T., Suzuki, S., Hayashi, Y., Urabe, A., Miyamura, K., Sakamoto, S., Yamaguchi, M., Tomaru, Y., 2016. Occurrence of *Karenia papilionacea* (Dinophyceae) and its novel sister phylotype in Japanese coastal waters. *Harmful Algae* 57, 59–68.

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.

Zapata, M., 2005. Recent advances in pigment analysis as applied to picophytoplankton. *Vie Et Milieu* 55, 233–248.

Zimmermann, J., Glöckner, G., Jahn, R., Enke, N., & Gemeinholzer, B. (2015). Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Molecular ecology resources*, 15 3, 526–42.

Zonneveld, K.A.F., Pospelova, V., 2015. A determination key for modern dinoflagellate cysts. *Palynology* 38, 387–409.



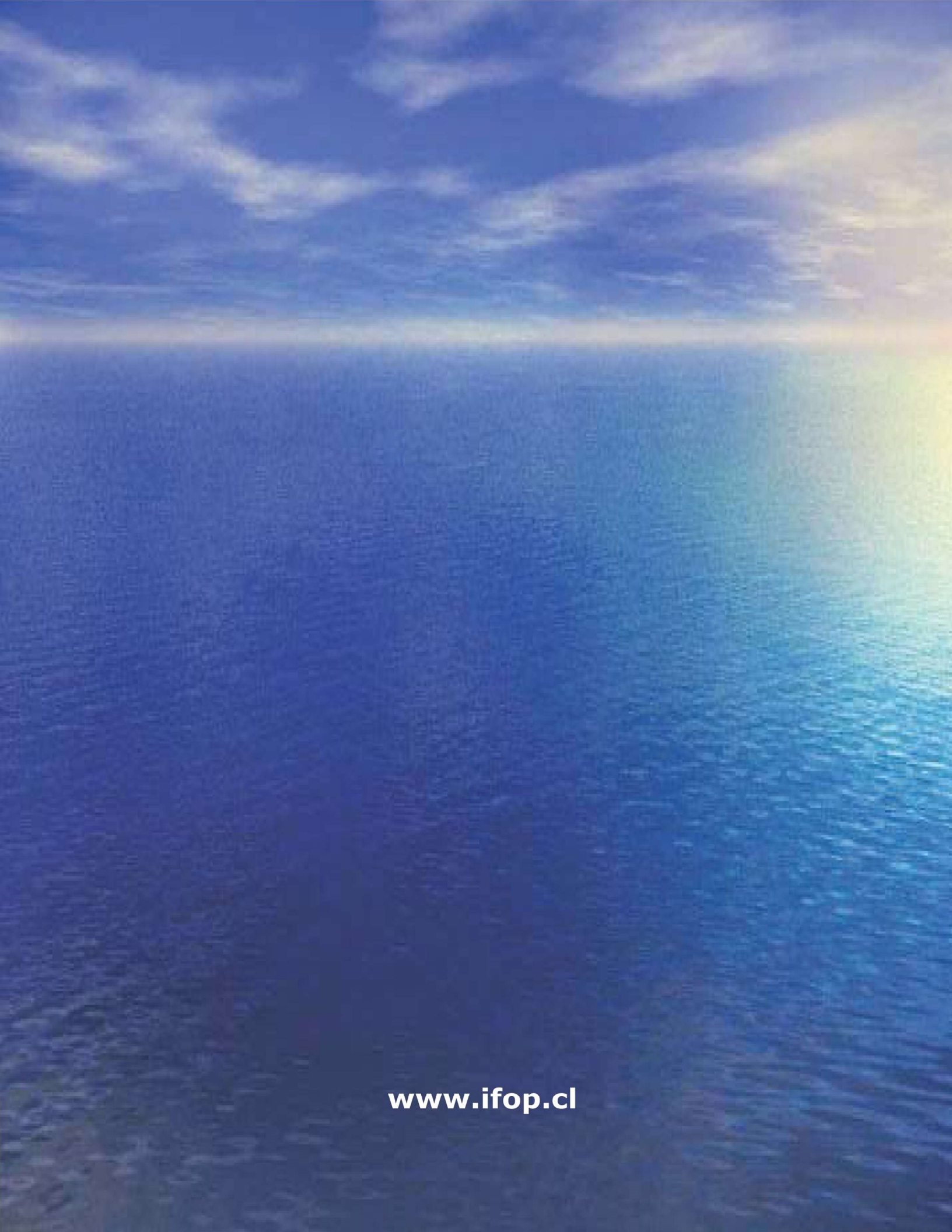
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Sección Ediciones y Producción

Blanco 839, Fono 56-32-2151500

Valparaíso, Chile

www.ifop.cl



www.ifop.cl